

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年9月27日 (27.09.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/70974 A1

(51) 国際特許分類⁷: C12N 15/12, C07K 14/47, 16/18, C12Q 1/68, A61K 38/17, 31/711, 48/00, 45/00, A61P 3/10, 3/04, 35/00, 9/10, 3/06, 25/00, 43/00, A61K 39/395, G01N 33/53, 33/50, 33/15

(74) 代理人: 弁理士 高橋秀一, 外(TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/02279

(22) 国際出願日: 2001年3月22日 (22.03.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-88595 2000年3月24日 (24.03.2000) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL PROTEIN, PROCESS FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 新規タンパク質、その製造法および用途

(57) Abstract: A novel SSD (sterol-sensing domain)-containing protein originating in human liver, human testis and human brain or its salt; and a DNA encoding the same. Concerning this novel SSD-containing protein, studies are also made on the tissue-specificity, changes in the expression depending on intracellular cholesterol level, construction of a transformant and site-specific expression induction in the brain of patients with Alzheimer's disease.

(57) 要約:

本発明は、ヒト肝臓由来およびヒト精巣由来、ヒト脳由来の新規SSD (sterol-sensing domain) 含有タンパク質またはその塩およびそれをコードするDNAに関する。また、本願新規SSD含有タンパク質の組織特異性、細胞内コレステロールレベルによる発現変化、形質転換体の作成、アルツハイマー患者脳部位特異的発現誘導についての調査も記載されている。

WO 01/70974 A1

明 紹 書

新規タンパク質、その製造法および用途

5 技術分野

本発明は、ヒト肝臓由来およびヒト精巣、ヒト脳由来の新規S S D含有タンパク質またはその塩およびそれをコードするD N Aに関する。

背景技術

10 コレステロールは真核細胞の形質膜に豊富に存在し、膜の透過性や機械的強度・耐久性等に関与し、膜調節の重要な機能を持つ分子であり、また、種々のステロイドホルモン前駆体としても必須な脂質である。動物細胞は生体内の恒常性を保つために、形質膜の主要構成脂質の1つであるコレステロールの細胞内レベルを調節する複雑な機構を備えている。形質膜・細胞内オルガネラにおけるコレステロール濃度は厳密な制御下にあることが知られているが、そのためには必ずその濃度を感知する機能が必要である。それを担う候補としてSSD (sterol-sensing domain)が考えられている [Current Opinion in Structural Biology, 8, 435-439 (1998)]。SSDは当初、細胞内コレステロールの増加で自分自身のプロテアーゼ分解が促進されるコレステロール生合成経路の律速酵素、HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A) 還元酵素と、小胞体のステロールレベル低下でSREBP (ステロール調節エレメント結合タンパク) のプロセッシングを活性化する分子として得られたSCAP (SREBP cleavage activating protein) に相同性を有する5回膜貫通領域が存在することから、この5膜領域がステロール濃度を感じている可能性があるとして提唱された [Cell, 87, 415-426 (1996)]。SSDは、一次構造上それほど高いホモロジーが有るわけではなく (identity 約20%, possibility 約40%程度)、コンセンサスモチーフが存在するわけでもない。しかしながら、その疎水性プロットは極めて良く類似し、二次構造的には良く保存されていると推測される。ニーマン・ピック病C型は常染色体劣性遺伝病で、LDL由来コレステロールの

リソソームからの輸送に欠陥をもち、細胞内にLDLコレステロールが異常蓄積し、神経障害と肝脾腫を引き起こす代謝疾患であるが、その原因遺伝子とし最近NPC1がポジショナルクローニングされ、そのタンパクがSSDを持っていることが分かっている [Molecular Medicine Today, 4, 525-531 (1998)] 。 NPC1 5 には現在、そのSSDがリソソームのコレステロールを感知して、閾値以上になると小胞の出芽のようにNPC-顆粒を遊離し、小胞体や形質膜へのコレステロール輸送を行うことが提唱されており [Current Opinion in Lipidology, 9, 131-135 (1998)] 、数々の実験事実がこのモデルを支持している [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 805-810 (1999); J. Biol. Chem., 274, 9627-9635 10 (1999)] 。細胞内脂質小胞輸送系でセンサー分子が同定されているのはNPC1のみであるが、他のオルガネラにもセンサー輸送小胞系が存在する可能性は高い。

Patchedは基底細胞母斑症候群の候補遺伝子であることが報告されているが [Science, 272, 1668-1671 (1996)] 、形態形成にかかる分泌性タンパク、 15 ヘッジホッグの受容体として機能しており、ヘッジホッグは胎生神経上皮においてコレステロールの修飾を受けている [Nature Genet., 15, 123-124 (1997)]。 SSDは、このPatchedにも認められている [Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 62, 191-204 (1997); Science, 277, 228-231 (1997)] 。 NPC1 はリソソームコレステロールセンサー (lysosome cholesterol sensor) として、 Patchedはヘッジホッグの修飾コレステロールのセンサーとして機能していると考えられるので、今までに見いだされた4つのSSD含有タンパク質にはすべてステロールセンサー機能が認められたことになる。最近、さらにSSD含有タンパクとしてTRC8 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 9572-9577 (1998)] 、 DHCR (7-dehydrocholesterol reductase) [J. Biol. Chem., 274, 14624-14631 20 (1999)] 、 Dispatched [Cell, 99, 803-815 (1999)]などが報告されている。 25

最近P糖蛋白質ABC1がコレステロール搬出の受容体であるという説が浮上しているが [Nature Genetics, 22, 336-345 (1999); Nature Genetics, 22, 347-351 (1999); Nature Genetics, 22, 352-355 (1999)] 、以前から多剤耐性 (MDR) 分子が細胞内脂質転送に関するという報告はあった [Cell, 87,

507-517 (1996)】。興味深いのは一群のMDR阻害剤がコレステロール転送を阻害するのみならず、NPC細胞様のリソソームへの脂質蓄積を来たし、また、催奇形性を有し、これらの強さが相関するという説である [Science, 280, 1603-1607 (1998)] 。これらのことから、コレステロール輸送に関わるMDRは
5 SSD含有タンパクと共に存もしくは相互作用し、活性調節を受けている可能性があり、ABC1もまた同様の可能性があると推定される。また、形質膜と小胞体、ゴルジ体の間には活発な脂質輸送が存在するが、まだセンサー分子は同定されていない。ACATは細胞内コレステロール濃度の上昇に伴い、本来局在する小胞体からプロテアーゼ分解を免れるかの様に細胞質全体に分布することが知られて
10 いるが、ここにセンサー分子の存在を予測させる。

細胞内・外には、これまでに見いだされたSSD含有タンパク質では説明できないステロールセンサーの存在を思わせる現象が多くあり、SSDを有する新規タンパク質を見いだすことが出来れば、それらの中にはマクロファージACATのコレステロール負荷によるタンパク局在性の変化、すなわち、ACAT含有小胞の輸送、マクロファージ中性コレステロールエステラーゼ（例、ホルモンセンシティブリパーゼ（HSL））のコレステロール負荷によるプロテアーゼ分解亢進、小胞体やゴルジ体から形質膜へのコレステロール輸送小胞、形質膜から小胞体へのコレステロール輸送小胞、コレステロール合成系の律速酵素、胆汁酸合成系の律速酵素、ステロイド合成の場であるミトコンドリアへの輸送小胞
15 などに関与する機能分子があることが想定される。
20

この様にSSD含有タンパクは生理的に非常に重要な役割を演じている可能性は高く、その新規タンパク質の発見および機能解明が待ち望まれていた。

本発明は新規SSD含有タンパク質またはその塩、該タンパク質をコードするDNA、組換えベクター、形質転換体、該タンパク質の製造法、該タンパク質またはDNAを含有する医薬、該タンパク質に対する抗体、該タンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物のスクリーニング方法、該タンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物スクリーニング方法、該スクリーニング方法によって得られうる化合物またはその塩、並びに該化合物またはその塩などを提供することを目的とする。

SSDを有する新規タンパク質を見いだすことが出来れば、マクロファージACATのコレステロール負荷によるタンパク局在性の変化、すなわち、ACAT含有小胞の輸送、マクロファージ中性コレステロールエステラーゼ（例、ホルモンセンシティブリパーゼ（HSL））のコレステロール負荷によるプロテアーゼ分解亢進、小胞体やゴルジ体から形質膜へのコレステロール輸送小胞、形質膜から小胞体へのコレステロール輸送小胞、コレステロール合成系の律速酵素、胆汁酸合成系の律速酵素、ステロイド合成の場であるミトコンドリアへの輸送小胞などに関与する機能分子の解析をより一層進展させることができ、該タンパク質に対して阻害活性或いは促進活性を発揮し、脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経変性疾患、神経障害などの予防や診断、治療に役立つ新たな医薬品の開発をすることができる。

発明の開示

15 本発明者らは、銳意研究を重ねた結果、ヒト肝臓、ヒト脳、精巣由来cDNAライブラリーからそれぞれ新規な塩基配列を有するcDNAをクローニングすることに成功した。そして、本発明者らは、得られたcDNAにコードされるタンパク質がSSD含有タンパク質であることを見出した。これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

20 すなわち、本発明は、

(1) 配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩、

(2) 配列番号：1 7 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、

25 (3) 配列番号：3 4 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、

(4) 配列番号：3 5 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、

(5) 配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一

のアミノ酸配列を含有する上記（1）記載のタンパク質またはその塩、

（6）配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩、

5 （7）配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記（6）記載のタンパク質またはその塩、

（8）①上記（1）記載のタンパク質または②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質をコードする塩基配列を

10 含有するDNAを含有するDNA、

（9）①配列番号：7で表される塩基配列の第64番目～第3999番目の塩基配列、②配列番号：15で表される塩基配列、③配列番号：32で表される塩基配列、④配列番号：33で表される塩基配列または⑤配列番号：41で表される塩基配列を含有する上記（8）記載のDNA、

15 （10）上記（8）記載のDNAを含有する組換えベクター、

（11）上記（10）記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体、

（12）上記（11）記載の形質転換体を培養し、該タンパク質を生成せしめることを特徴とする、①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩の製造法、

20 （13）①上記（1）記載のタンパク質または②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩に対する抗体、

25 （14）①上記（1）記載のタンパク質または②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列

を含まないタンパク質) またはその塩を含有する医薬、

(15) 上記(8)記載のDNAを含有する医薬、

(16) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤である上記(14)または(15)記載の医薬、

5 (17) 上記(8)記載のDNAまたは上記(13)記載の抗体を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の診断剤、

(18) ①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩を用いることを特徴とする①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(19) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩を含有してなる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、

(20) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩、
5

(21) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩を含有してなる医薬、
10

(22) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、
20

(23) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の
25

ステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(24) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有することを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット、

(25) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、

(26) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、

(27) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番

号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、

- (28) 上記(8)記載のDNAまたはその一部を用いることを特徴とする①
5 上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のmRNAの定量方法、
10 (29) 上記(13)記載の抗体を用いることを特徴とする①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)
15 の定量方法、
(30) 上記(28)または上記(29)記載の定量方法を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)
20 の機能が関連する疾患の診断方法、
(31) 上記(28)記載の定量方法を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)
25 の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
(32) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と

同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を変化させる化合物またはその塩、

- 5 (33) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、
10 (34) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、
15 (35) 上記(29)記載の定量方法を用いることを特徴とする、細胞内の①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
20 (36) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内における①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配

列を含まないタンパク質)のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩、

(37) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内

における①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされる

アミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパ

ク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実
質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配
列を含まないタンパク質)のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩を
含有してなる医薬、

(38) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内にお

ける①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミ

ノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質

(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のタンパク質量を増加させる化合物またはその塩を含有

してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経
障害の予防・治療剤、

(39) SSD含有タンパク質に働く細胞内コレステロール輸送調節作用を
有する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高
脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、

(40) 哺乳動物に対して、①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号:
8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を
含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と
同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わさ
れるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の有効量を投与するこ
とを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患また
は神経障害の予防・治療方法、

(41) 哺乳動物に対して、上記(8)記載のDNAの有効量を投与すること
を特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または
神経障害の予防・治療方法、

- (4 2) 哺乳動物に対して、上記(1 8)記載のスクリーニング方法または上記(1 9)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 10 (4 3) 哺乳動物に対して、上記(2 3)記載のスクリーニング方法または上記(2 4)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 15 (4 4) 哺乳動物に対して、上記(3 1)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 20 (4 5) 哺乳動物に対して、S S D含有タンパク質に働く細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経

障害の予防・治療方法、

- (46) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の使用、
- (47) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(8)記載のDNAの使用、
- (48) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の使用、
- (49) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための哺乳動物に対して、上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の使用、
- (50) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8

で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、

- 5 (51) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するためのSSD含有タンパク質に働く細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の使用などに関する、さらには、
- 10 (52) タンパク質が、①配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～9個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：16で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有するタンパク質である上記（1）記載のタンパク質またはその塩、
- 15 (53) タンパク質が、①配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～9個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他の

アミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質である上記（6）記載のタンパク質またはその塩、
(54) 上記（1）～（3）のいずれかに記載のタンパク質の部分ペプチド、
5 (55) ステロール感知能を有する上記（54）記載の部分ペプチド、
(56) (i) ①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくはその塩と、ステロールとを接触させた場合と、(ii) ①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）またはその塩タンパク質とステロールおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする上記（23）記載のスクリーニング方法、
(57) (i) ステロールを①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞に接触させた場合と、(ii) ステロールおよび試験化合物を①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞に接触させた場合における、該タンパク質を介した細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とする①上記（1）記載のタンパク質または②配列番号：8 で

表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のステロール感知能を変化させる化合物
5 またはその塩のスクリーニング方法、

(58) ステロールを上記(11)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質に接触させた場合と、ステロールおよび試験化合物を上記(11)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質に接触させた場合における、該タン
10 パク質を介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とする①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)
15 のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(59) 上記(56)または(57)記載のスクリーニング方法で得られる、
①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、
20

(60) 上記(57)または上記(58)記載のスクリーニング方法で得られる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩
25 を含有することを特徴とする医薬、

(61) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされる

- アミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞を含有することを特徴とする上記
- 5 (24) 記載のスクリーニング用キット、
- (62) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞の膜画分を含有することを特徴とする上記(24)記載のスクリーニング用キット、
- 10 (63) 上記(11)記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質を含有することを特徴とする上記(24)記載のスクリーニング用キット、
- 15 (64) 上記(61)～(63)記載のスクリーニング用キットを用いて得られる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、
- 20 (65) 上記(61)～(63)記載のスクリーニング用キットを用いて得られる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有することを特徴とする医薬、
- 25 (66) 上記(13)記載の抗体と、①上記(1)記載のタンパク質もしくは

②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩とを接触させることを特徴とする①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩の定量法、
(67) 上記（13）記載の抗体と、被検液および標識化された①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化された①上記（1）記載のタンパク質もしくは②

配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩の割合を測定することを特徴とする被検液中の
5 ①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：
10 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩の割合を測定することを特徴とする被検液中の
15 ①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：
20 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチドまたはその塩の定量法、および
25 （6 8）被検液と担体上に不溶化した上記（1 3）記載の抗体および標識化された上記（1 3）記載の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）またはその塩の定量法などを提供する。

図面の簡単な説明

- 図 1 は SSP1 mRNA の発現組織特異性の解析結果を示す。図中、heart は心臓を、brain は脳を、placenta は胎盤を、lung は肺を、liver は肝臓を、skeletal muscle は骨格筋を、kidney は腎臓を、pancreas は胰臓を、spleen は脾臓を、thymus は胸腺を、prostate は前立腺を、testis は精巣を、ovary は卵巣を、small intestine は小腸を、colon は大腸を、PBL (peripheral blood monocyte) は末梢血白血球を、stomach は胃を、thyroid は甲状腺を、spinal cord は脊髄を、trachea は気管を、adrenal gland は副腎を、bone marrow は骨髓を示す。
- 図 2 は SSP2 mRNA の発現組織特異性の解析結果を示す。図中、heart は心臓を、brain は脳を、placenta は胎盤を、lung は肺を、liver は肝臓を、skeletal muscle は骨格筋を、kidney は腎臓を、pancreas は胰臓を、spleen は脾臓を、thymus は胸腺を、prostate は前立腺を、testis は精巣を、ovary は卵巣を、small intestine は小腸を、colon は大腸を、PBL (peripheral blood monocyte) は末梢血白血球を、stomach は胃を、thyroid は甲状腺を、spinal cord は脊髄を、trachea は気管を、adrenal gland は副腎を、bone marrow は骨髓を示す。
- 図 3 は SSP1 の発現解析を行った結果を示す。図中、横軸は反応液中の SSP1 cDNA のコピー濃度 (copies/ μ l) を、縦軸は検出域に達するに要した PCR サイクル数を示す。
- 図 4 は SSP2 の発現解析を行った結果を示す。図中、横軸は反応液中の SSP2 cDNA のコピー濃度 (copies/ μ l) を、縦軸は検出域に達するに要した PCR サイクル数を示す。
- 図 5 は SSP1 の遺伝子発現組織特異性を調べた結果を示す。図中、縦軸の Caco - 2 は結腸癌由来ヒト細胞株 Caco-2 細胞を、HepG2 は肝癌由来ヒト細胞株 HepG2 を、M. Grand は乳腺を、B. Marrow は骨髓を、Adipocyte は脂肪細胞を、Retina は網膜を、Uterus は子宮を、Prostate は前立腺を、Spleen は脾臓を、Pancreas は胰臓を、Fetus Brain は胎児脳を、P. Grand は脳下垂体を、Testis は精巣を、Leukocyte は白血球を、Colon は大腸を、A. Grand は副腎を、Ovary は卵巣を、S. Muscle は平滑筋を、S. Intestine は小腸を、Lung は肺を、Liver は肝臓を、Kid

n e yは腎臓を、H e a r tは心臓を、F e t u sは胎児を示す。横軸は遺伝子の発現量を示す。

図6はノーザンプロットによるSSP1 mRNAの小腸部位特異的発現を調べた結果を示す。

- 5 図7はHepG2細胞内コレステロールレベルによるSSP1遺伝子の発現変化を調べた結果を示す。

図8はSSP2遺伝子の神経系細胞株での神経芽細胞腫特異的発現とIMR-32細胞での分化依存性発現誘導を調べた結果を示す。横軸の数値はSSP2遺伝子の発現量を示す。

- 10 図9はSSP1安定発現細胞のSSP1タンパクの産生量を調べた結果を示す。

図10はSSP1安定過剰発現型HepG2細胞におけるA p o Bリポタンパク分泌量を調べた結果を示す。縦軸はA p o Bリポタンパク分泌量を示す。

- 15 図11はアルツハイマー病患者におけるSSP2mRNAの脳部位特異的発現を調べた結果を示す。縦軸のC e r e b e l l u mは小脳を、A m y g d a l a hは扁桃体を、H i p p o c a n p u sは海馬を、T e m p o r a l _ L o b eは側頭葉を、P a r i e t a l _ L o b eは頭頂葉を、O c c i p i t a l _ L o b eは後頭葉を、F r o n t a l _ L o b eは前頭葉を示す。横軸はSSP2mRNA発現量を示す。

20 発明を実施するための最良の形態

本発明のタンパク質は、(1)配列番号：16で表わされるアミノ酸配列(S S D配列)と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質または(2)配列番号：8で表わされるアミノ酸配列(S S D配列)と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質である。

25 本発明のタンパク質は、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)のあらゆる細胞(例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、胰臓 β 細胞、骨髓細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、纖維芽細胞、纖

維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）
5 や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁頭核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殼、尾状核、脳染、黒質）、脊髄、下垂体、胃、胰臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髓、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、
10 脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巣、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など（特に、脳や脳の各部位）に由来するタンパク質であつてもよく、また合成タンパク質であつてもよい。

配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と約 50 %以上、好ましくは約 60 %以上、より好ましくは約 70 %以上、さらに好ましくは約 80 %以上、なかでも好ましくは約 90 %以上、最も好ましくは約 95 %以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。

本発明の配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列として具体的には、例えば、

- 25 (1) 配列番号：1 7 で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト精巣由来の S S P 2）、
- (2) 配列番号：3 4 で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト精巣由来の未成熟 S S P 2）、
- (3) 配列番号：3 5 で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例え

ば、ヒト精巣由来の未成熟S S P 2）、または

（4）配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト脳由来のS S P 2）などが挙げられる。

さらに、本発明のタンパク質には、配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質も含まれる。

配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：1 7、配列番号：3 4、配列番号：3 5 または配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。

配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質

などが好ましい。

本発明の配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質として、より具体的には、例えば、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト肝臓由来のSSP1）などが挙げられる。

さらに、本発明のタンパク質には、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質も含まれる。

①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列または②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。

実質的に同質の活性としては、例えば、ステロール（好ましくはコレステロール）感知能などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に

同質であることを示す。したがって、ステロール感知能などの活性が同等（例、約0.01～100倍、好ましくは約0.5～20倍、より好ましくは約0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度やタンパク質の分子量などの量的要素は異なっていてもよい。

5 ステロール感知能などの活性の測定は、ステロール濃度に応じた細胞応答など（細胞刺激活性など）の測定方法またはそれに準じた方法により行なうことができるが、例えば、後述するスクリーニング方法に従って測定することができる。

本発明のタンパク質としては、①配列番号：16で表わされるアミノ酸配列
10 中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：16で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好
15 ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質なども用いられる。

20 また、本発明のタンパク質としては、①配列番号：8で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好
25 ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：8で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有し、配列番号：3で表わされる

アミノ酸配列を含まない蛋白質なども用いられる。

また、本発明のタンパク質としては、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配列番号：17で表わされるアミノ酸配列、配列番号：34、
5 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配
10 列番号：17で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配列番
15 号：17で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有するタンパク質なども用いられる。

20 ただし、本発明のタンパク質には、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列に配列番号：38で表わされるアミノ酸配列が挿入されたアミノ酸配列を含むタンパク質（ゲノミクス（Genomics），65，137-145，2000）は含まれない。

また、本発明の蛋白質から、配列番号：42で表わされる塩基配列を有する
25 DNAにコードされるアミノ酸配列を有するタンパク質を除くのが好ましい。

本明細書におけるタンパク質は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をはじめとする、本発明のタンパク質は、C末端が通常カルボキシル基（-COOH）またはカルボキシレー

ト($-COO^-$)であるが、C末端がアミド($-CONH_2$)またはエステル($-COOR$)であってもよい。

- ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₁₋₂アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル-C₁₋₂アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。
- 本発明のタンパク質がC末端以外にカルボキシル基(またはカルボキシレート)を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明のタンパク質に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

- さらに、本発明のタンパク質には、上記したタンパク質において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基(例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など)で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基(例えば、-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など)が適当な保護基(例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など)で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖タンパク質などの複合タンパク質なども含まれる。

- 本発明のタンパク質の部分ペプチド(以下、部分ペプチドと略記する場合がある)としては、前記した本発明のタンパク質の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、本発明のタンパク質分子のうち、細胞膜貫通領域であって、ステロールに対する結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、(1)配列番号: 16またはで表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質または(2)配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列を有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質の部分ペプチド

としては、図3で示される疎水性プロット解析において膜貫通領域（疎水性（Hydrophobic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、親水性（Hydrophilic）部位を一部に含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

本発明の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記した本発明のタンパク質の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列を有するペプチドなどが好ましい。

実質的に同一のアミノ酸配列とは、これらアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列を示す。

ここで、「実質的に同質の活性」とは、前記と同意義を示す。「実質的に同質の活性」の測定は前記と同様に行なうことができる。

また、本発明の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個、さらに好ましくは1～5個程度）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。

また、本発明の部分ペプチドはC末端が通常カルボキシル基（-COOH）またはカルボキシレート（-COO⁻）であるが、前記した本発明のタンパク質のごとく、C末端がアミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）であってもよい。

さらに、本発明の部分ペプチドには、前記した本発明のタンパク質と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したGlnがピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

また、本発明の部分ペプチドはC末端が通常カルボキシル基（-COOH）またはカルボキシレート（-COO⁻）であるが、前記した本発明のタンパク質のごとく、C末端がアミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）であってもよい。

5 本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの塩としては、酸または塩基との生理学的に許容される塩が挙げられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオ酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔥酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

10 本発明のタンパク質またはその塩は、前述したヒトや哺乳動物の細胞または組織から自体公知のタンパク質の精製方法によって製造することもできるし、後述する本発明のタンパク質をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによっても製造することができる。また、後述のタンパク質合成法

15 またはこれに準じて製造することもできる。

ヒトや哺乳動物の組織または細胞から製造する場合、ヒトや哺乳動物の組織または細胞をホモジナイズした後、酸などで抽出を行ない、該抽出液を逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーを組み合わせることにより精製単離することができる。

20 本発明のタンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその塩またはそのアミド体の合成には、通常市販のタンパク質合成用樹脂を用いることができる。そのような樹脂としては、例えば、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニルヒドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-Fmocアミノエチル)フェノキシ樹脂などを挙げることができる。このような樹脂を用い、α-アミノ基と側鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とするタンパク質の配列通りに、自体公知の各

種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させる。反応の最後に樹脂からタンパク質を切り出すと同時に各種保護基を除去し、さらに高希釈溶液中で分子内ジスルフィド結合形成反応を実施し、目的のタンパク質またはそのアミド体を取得する。

上記した保護アミノ酸の縮合に関しては、タンパク質合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としては、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが用いられる。これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤（例えば、HOBT、HOOBt）とともに保護アミノ酸を直接樹脂に添加するかまたは、対称酸無水物またはHOBTエステルあるいはHOOBtエステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行なった後に樹脂に添加することができる。

保護アミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、タンパク質縮合反応に使用しうることが知られている溶媒から適宜選択されうる。例えば、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酸アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいはこれらの適宜の混合物などが用いられる。反応温度はタンパク質結合形成反応に使用され得ることが知られている範囲から適宜選択され、通常約-20℃～50℃の範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常1.5～4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、縮合が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく縮合反応を繰り返すことにより十分な縮合を行なうことができる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化することができる。

原料のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、ターシャリーペンチルオキシカルボニル、イソポルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジル

オキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタロイル、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmocなどが用いられる。

カルボキシリ基は、例えば、アルキルエステル化（例えば、メチル、エチル、
5 プロピル、ブチル、ターシャリーブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリ、
シクロヘプチル、シクロオクチル、2-アダマンチルなどの直鎖状、分枝状も
しくは環状アルキルエステル化）、アラルキルエステル化（例えば、ベンジル
エステル、4-ニトロベンジルエステル、4-メトキシベンジルエステル、4-
10 クロロベンジルエステル、ベンズヒドリルエステル化）、フェナシルエステ
ル化、ベンジルオキシカルボニルヒドラジド化、ターシャリーブトキシカルボ
ニルヒドラジド化、トリチルヒドラジド化などによって保護することができる。

セリンの水酸基は、例えば、エステル化またはエーテル化によって保護する
ことができる。このエステル化に適する基としては、例えば、アセチル基など
の低級アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイル基、ベンジルオキシカル
15 ボニル基、エトキシカルボニル基などの炭酸から誘導される基などが用いられ
る。また、エーテル化に適する基としては、例えば、ベンジル基、テトラヒド
ロピラニル基、t-ブチル基などである。

チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えば、Bzl、Cl₂-Bzl、
2-ニトロベンジル、Br-Z、ターシャリーブチルなどが用いられる。

ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、例えば、Tos、4-メトキシ-
2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc、
Trt、Fmocなどが用いられる。

原料のカルボキシリ基の活性化されたものとしては、例えば、対応する酸無
水物、アジド、活性エステル〔アルコール（例えば、ペンタクロロフェノール、
25 2,4,5-トリクロロフェノール、2,4-ジニトロフェノール、シアノメチルアルコ
ール、パラニトロフェノール、HOBt、N-ヒドロキシスクシミド、N-ヒドロキシ
フタルイミド、HOBt）とのエステル〕などが用いられる。原料のアミノ基の活
性化されたものとしては、例えば、対応するリン酸アミドが用いられる。

保護基の除去（脱離）方法としては、例えば、Pd-黒あるいはPd-炭素な

どの触媒の存在下での水素気流中の接触還元や、また、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいはこれらの混合液などによる酸処理や、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン、ピペラジンなどによる塩基処理、また液体アンモニア中ナトリウムによる還元なども用いられる。上記酸処理による脱離反応は、一般に約-20℃～40℃の温度で行なわれるが、酸処理においては、例えば、アニソール、フェノール、チオアニソール、メタクレゾール、パラクレゾール、ジメチルスルフィド、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなどのようなカチオン捕捉剤の添加が有効である。また、ヒスチジンのイミダゾール保護基として用いられる2,4-ジニトロフェニル基はチオフェノール処理により除去され、トリプトファンのインドール保護基として用いられるホルミル基は上記の1,2-エタンジチオール、1,4-ブタンジチオールなどの存在下の酸処理による脱保護以外に、希水酸化ナトリウム溶液、希アンモニアなどによるアルカリ処理によっても除去される。

原料の反応に関与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に関与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段から適宜選択しうる。

タンパク質のアミド体を得る別の方法としては、例えば、まず、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基をアミド化して保護した後、アミノ基側にペプチド（タンパク質）鎖を所望の鎖長まで延ばした後、該ペプチド鎖のN末端の α -アミノ基の保護基のみを除いたタンパク質とC末端のカルボキシル基の保護基のみを除去したタンパク質とを製造し、この両タンパク質を上記したような混合溶媒中で縮合させる。縮合反応の詳細については上記と同様である。縮合により得られた保護タンパク質を精製した後、上記方法によりすべての保護基を除去し、所望の粗タンパク質を得ることができる。この粗タンパク質は既知の各種精製手段を駆使して精製し、主要画分を凍結乾燥することで所望のタンパク質のアミド体を得ることができる。

タンパク質のエステル体を得るには、例えば、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基を所望のアルコール類と縮合しアミノ酸エステルとした後、

タンパク質のアミド体と同様にして、所望のタンパク質のエステル体を得ることができる。

本発明のタンパク質の部分ペプチドまたはその塩は、自体公知のペプチドの合成法に従って、あるいは本発明のタンパク質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。ペプチドの合成法としては、例えば、固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。すなわち、本発明のタンパク質を構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを縮合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造することができる。公知の縮合方法や保護基の脱離としては、例えば、以下の①～⑤に記載された方法が挙げられる。

- ①M. Bodanszky および M.A. Ondetti、ペプチド シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publishers, New York (1966年)
- ②Schroeder および Luebke、ザ ペプチド (The Peptide), Academic Press, New York (1965年)
- ③泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株) (1975年)
- ④矢島治明 および 柳原俊平、生化学実験講座 1、タンパク質の化学IV、205、(1977年)
- ⑤矢島治明監修、続医薬品の開発 第14巻 ペプチド合成 広川書店

また、反応後は通常の精製法、たとえば、溶媒抽出・蒸留・カラムクロマトグラフィー・液体クロマトグラフィー・再結晶などを組み合わせて本発明の部分ペプチドを精製単離することができる。上記方法で得られる部分ペプチドが遊離体である場合は、公知の方法によって適当な塩に変換することができるし、逆に塩で得られた場合は、公知の方法によって遊離体に変換することができる。

本発明のタンパク質をコードするDNAを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15(7)、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、本発明のタンパク質のmRNAを定量することができる。

本発明のタンパク質をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに

使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅することもできる。

具体的には、本発明のタンパク質をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、本発明のタンパク質と実質的に同質の活性（例、ステロール（好ましくはコレステロール）結合活性など）を有するタンパク質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

ただし、本発明のタンパク質をコードするDNAには、配列番号：7で表わされる塩基配列に配列番号：39で表わされる塩基配列を挿入した塩基配列を有するDNA（ゲノミクス（Genomics），65，137-145，2000）は含まれない。

また、本発明のタンパク質をコードするDNAから、配列番号：42で表わされる塩基配列を有するDNAを除くのが好ましい。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング（Molecular Cloning）2nd（J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989）に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19～4

0 mM、好ましくは約19～20 mMで、温度が約50～70℃、好ましくは約60～65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：28で表わされる塩基配列などが用いられ、配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：29で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

また、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含有しないタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：28で表わされる塩基配列を含有し、配列番号：39で表わされる塩基配列を含有しないDNAなどが用いられる。

さらに、

(1) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～第1332番目のアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：7で表される塩基配列の第64番目～第3999番目の塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(2) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：7で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(3) 配列番号：17で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：15で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(4) 配列番号：34で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：32で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(5) 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：33で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(6) 配列番号：40で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：41で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

本発明のタンパク質またはその部分ペプチド（以下、本発明のタンパク質と

略記する場合がある)を完全にコードするDNAのクローニングの手段としては、本発明のタンパク質の部分塩基配列を有する合成DNAプライマーを用いてPCR法によって増幅するか、または適当なベクターに組み込んだDNAを本発明のタンパク質の一部あるいは全領域をコードするDNA断片もしくは
5 合成DNAを用いて標識したものとのハイブリダイゼーションによって選別
することができる。ハイブリダイゼーションの方法は、例えば、モレキュラー・
クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring
Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。
また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に
10 従って行なうことができる。

DNAの塩基配列の変換は、公知のキット、例えば、MutanTM-G(宝酒造(株))、
MutanTM-K(宝酒造(株))などを用いて、Gapped duplex法やKunkel法などの
自体公知の方法あるいはそれらに準じる方法に従って行なうことができる。

15 クローン化されたタンパク質をコードするDNAは目的によりそのまま、また
は所望により制限酵素で消化したり、リンカーを付加したりして使用する
ことができる。該DNAはその5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAG
を有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合
成DNAアダプターを用いて付加することもできる。

20 本発明のタンパク質の発現ベクターは、例えば、(イ) 本発明のタンパク質
をコードするDNAから目的とするDNA断片を切り出し、(ロ) 該DNA断
片を適当な発現ベクター中のプロモーターの下流に連結することにより製造
することができる。

25 ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド(例、pBR322, pBR3
25, pUC12, pUC13)、枯草菌由来のプラスミド(例、pUB11
0, pTP5, pC194)、酵母由来プラスミド(例、pSH19, pSH
15)、入ファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニア
ウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどの他、pA1-11, p
XT1, pRc/CMV, pRc/RSV, pcDNA1/Neoなどが用い

られる。

本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応して適切なプロモーターであればいかなるものでもよい。例えば、動物細胞を宿主として用いる場合は、SR α プロモーター、SV40プロモーター、L5 TRプロモーター、CMVプロモーター、HSV-TKプロモーターなどが挙げられる。

これらのうち、CMVプロモーター、SR α プロモーターなどを用いるのが好ましい。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、recAプロモーター、 λP_L プロモーター、lppプロモーターなどが、宿主がバチルス属菌である場合は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。宿主が昆虫細胞である場合は、ポリヘドリンプロモーター、P10プロモーターなどが好ましい。

発現ベクターには、以上その他に、所望によりエンハンサー、スプライシングシグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー、SV40複製オリジン（以下、SV40oriと略称する場合がある）などを含有しているものを用いることができる。選択マーカーとしては、例えば、ジヒドロ葉酸還元酵素（以下、dhfrと略称する場合がある）遺伝子〔メソトレキセート（MTX）耐性〕、アンピシリン耐性遺伝子（以下、Amp r と略称する場合がある）、ネオマイシン耐性遺伝子（以下、Neo r と略称する場合がある、G418耐性）等が挙げられる。特に、CHO(dhfr $^{-}$)細胞を用いてdhfr遺伝子を選択マーカーとして使用する場合、目的遺伝子をチミジンを含まない培地によっても選択できる。

また、必要に応じて、宿主に合ったシグナル配列を、本発明のタンパク質のN端末側に付加する。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、PhoA・シグナル配列、OmpA・シグナル配列などが、宿主がバチルス属菌である場合は、 α -アミラーゼ・シグナル配列、サブチリシン・シグナル配列などが、宿主が酵母である場合は、MF α ・シグナル配列、SUC2・シグナル配列など、宿主

が動物細胞である場合には、インシュリン・シグナル配列、 α -インターフェロン・シグナル配列、抗体分子・シグナル配列などがそれぞれ利用できる。

このようにして構築された本発明のタンパク質をコードするDNAを含有するベクターを用いて、形質転換体を製造することができる。

5 宿主としては、例えば、エシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、昆虫、動物細胞などが用いられる。

エシェリヒア属菌の具体例としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) K12・DH1 [プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユースエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 60巻, 160(1968)], JM103 [スクイレック・アッシュズ・リサーチ, (Nucleic Acids Research), 9巻, 309(1981)], JA221 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (Journal of Molecular Biology)], 120巻, 517(1978)], HB101 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 41巻, 459(1969)], C600 [ジェネティックス (Genetics), 39巻, 440(1954)]などが用いられる。

バチルス属菌としては、例えば、バチルス・ズブチルス (*Bacillus subtilis*) M114 [ジーン, 24巻, 255(1983)], 207-21 [ジャーナル・オブ・バイオケミストリー (Journal of Biochemistry), 95巻, 87(1984)]などが用いられる。

酵母としては、例えば、サッカロマイセス セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) AH22, AH22R⁻, NA87-11A, DKD-5D, 20B-12、シゾサッカロマイセス ポンペ (*Schizosaccharomyces pombe*) NCYC1913, NCYC2036、ピキア パストリス (*Pichia pastoris*)などが用いられる。

昆虫細胞としては、例えば、ウイルスがAcNPVの場合は、夜盗蛾の幼虫由来株化細胞 (*Spodoptera frugiperda* cell; Sf細胞)、*Trichoplusia ni*の中腸由来のMG1細胞、*Trichoplusia ni*の卵由来のHigh FiveTM 細胞、*Mamestra brassicae*由来の細胞または*Estigmene acrea*由来の細胞などが用い

られる。ウイルスがBmNPVの場合は、蚕由来株化細胞 (*Bombyx mori N*; BmN細胞)などが用いられる。該Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞(ATCC CRL1711)、Sf21細胞(以上、Vaughn, J.L.ら、イン・ヴィボ (In Vivo), 13, 213-217, (1977))などが用いられる。

5 昆虫としては、例えば、カイコの幼虫などが用いられる〔前田ら、ネイチャー (Nature), 315巻, 592(1985)〕。

動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7, Vero, チャイニーズハムスター細胞CHO(以下、CHO細胞と略記), dhfr遺伝子欠損チャイニーズハムスター細胞CHO(以下、CHO(dhfr⁻)細胞と略記), マウスL細胞, マウスA_tT-20, マウスミエローマ細胞, ラットGH3, ヒトF_L細胞などが用いられる。

10 エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えば、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンジーズ・オブ・ザ・ユースエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 69巻, 2110(1972)やジーン (Gene), 17巻, 107(1982)などに記載の方法に従って行なうことができる。

15 バチルス属菌を形質転換するには、例えば、モレキュラー・アンド・ジェネラル・ジェネティックス (Molecular & General Genetics), 168巻, 111(1979)などに記載の方法に従って行なうことができる。

20 酵母を形質転換するには、例えば、メソソズ・イン・エンザイモロジー (Methods in Enzymology), 194巻, 182-187(1991)、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユースエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 75巻, 1929(1978)などに記載の方法に従って行なうことができる。

25 昆虫細胞または昆虫を形質転換するには、例えば、バイオ/テクノロジー (Bio/Technology), 6, 47-55(1988)などに記載の方法に従って行なうことができる。

動物細胞を形質転換するには、例えば、細胞工学別冊8新細胞工学実験プロトコール, 263-267(1995)(秀潤社発行)、ヴィロロジー (Virology),

52巻、456(1973)に記載の方法に従って行なうことができる。

このようにして、タンパク質をコードするDNAを含有する発現ベクターで形質転換された形質転換体が得られる。

宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際、培5 養に使用される培地としては液体培地が適当であり、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他が含有せしめられる。炭素源としては、例えば、グルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖など、窒素源としては、例えば、アンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチーブ・リカーやペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、バレイショ抽出液などの無機または有機物質、無機物としては、例えば、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを添加してもよい。培地のpHは約5~8が望ましい。

エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えば、グルコース、カザミノ酸を含むM9培地〔ミラー(Miller), ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス(Journal of Experiments in Molecular Genetics), 431-433, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1972〕が好ましい。ここに必要によりプロモーターを効率よく働くために、例えば、3β-インドリル アクリル酸のような薬剤を加えることができる。

宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約15~43℃で約3~24時間行ない、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。

宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約30~40℃で約6~24時間行ない、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、バーク25 ホールダー(Burkholder)最小培地[Bostian, K. L. ら、「プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユースエー(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.), 77巻, 4505(1980)]や0.5%カザミノ酸を含有するSD培地[Bitter, G. A. ら、「プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オ

ブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.) , 81巻, 5330 (1984)] が挙げられる。培地の pH は約 5~8 に調整するのが好ましい。培養は通常約 20°C~35°C で約 24~72 時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

5 宿主が昆虫細胞または昆虫である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect Medium (Grace, T.C.C., ネイチャー (Nature), 195, 788 (1962)) に非動化した 10% ウシ血清等の添加物を適宜加えたものなどが用いられる。培地の pH は約 6.2~6.4 に調整するのが好ましい。培養は通常約 27°C で約 3~5 日間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

10 宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、約 5~20% の胎児牛血清を含む MEM 培地 [サイエンス (Science), 122 巻, 501 (1952)] , DMEM 培地 [ヴィロロジー (Virology), 8巻, 396 (1959)] , RPMI 1640 培地 [ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・メディカル・アソシエーション (The Journal of the American Medical Association) 199巻, 519 (1967)] , 199 培地 [Proceeding of the Society for the Biological Medicine), 73巻, 1 (1950)] などが用いられる。pH は約 6~8 であるのが好ましい。培養は通常約 30°C~40°C で約 15~60 時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

15 20 以上のようにして、形質転換体の細胞内、形質膜または細胞外に本発明のタンパク質を生成せしめることができる。

上記培養物から本発明のタンパク質を分離精製するには、例えば、下記の方法により行なうことができる。

25 本発明のタンパク質を培養菌体あるいは細胞から抽出するに際しては、培養後、公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁し、超音波、リゾチームおよび／または凍結融解などによって菌体あるいは細胞を破壊したのち、遠心分離やろ過によりタンパク質の粗抽出液を得る方法などが適宜用いられる。緩衝液の中に尿素や塩酸グアニジンなどの蛋白質変性剤や、トリトン X-100TMなどの界面活性剤が含まれていてもよい。培養液中にタ

ンパク質が分泌される場合には、培養終了後、それ自体公知の方法で菌体あるいは細胞と上清とを分離し、上清を集めます。

このようにして得られた培養上清、あるいは抽出液中に含まれるタンパク質の精製は、自体公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行なうことができる。

- 5 これらの公知の分離、精製法としては、塩析や溶媒沈殿法などの溶解度を利用する方法、透析法、限外ろ過法、ゲルろ過法、およびSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法などの主として分子量の差を利用する方法、イオン交換クロマトグラフィーなどの荷電の差を利用する方法、アフィニティクロマトグラフィーなどの特異的新和性を利用する方法、逆相高速液体クロマトグラフィーなどの疎水性の差を利用する方法、等電点電気泳動法などの等電点の差を利用する方法などが用いられる。

- 10 かくして得られるタンパク質が遊離体で得られた場合には、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または他の塩に変換することができる。

- 15 なお、組換え体が産生するタンパク質を、精製前または精製後に適当な蛋白修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり、ポリペプチドを部分的に除去することもできる。蛋白修飾酵素としては、例えは、トリプシン、キモトリプシン、アルギニルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グリコシダーゼなどが用いられる。

- 20 かくして生成する本発明のタンパク質またはその塩の活性は、標識したステロール（好ましくはコレステロール）との結合実験および特異抗体を用いたエンザイムイムノアッセイなどにより測定することができる。

- 25 本発明のタンパク質またはその塩に対する抗体は、本発明のタンパク質またはその塩を認識し得る抗体であれば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体の何れであってもよい。

本発明のタンパク質またはその塩（以下、本発明のタンパク質と略記する場合がある）に対する抗体は、本発明のタンパク質を抗原として用い、自体公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。

〔モノクローナル抗体の作製〕

(a) モノクローナル抗体産生細胞の作製

本発明のタンパク質は、哺乳動物に対して投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュvantや不完全フロイントアジュvantを投与してもよい。投与は通常2～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行なわれる。用いられる哺乳動物としては、例えば、サル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギが挙げられるが、マウスおよびラットが好ましく用いられる。

モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原を免疫された温血動物、例えば、マウスから抗体価の認められた個体を選択し最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髄腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば、後記の標識化タンパク質と抗血清とを反応させたのち、抗体に結合した標識剤の活性を測定することにより行なうことができる。融合操作は既知の方法、例えば、ケーラーとミルスタインの方法〔ネイチャー (Nature)、256巻、495頁(1975年)〕に従い実施することができる。融合促進剤としては、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)やセンダイウィルスなどが挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。

骨髄腫細胞としては、例えば、NS-1、P3U1、SP2/0などが挙げられるが、P3U1が好ましく用いられる。用いられる抗体産生細胞(脾臓細胞)数と骨髄腫細胞数との好ましい比率は1:1～20:1程度であり、PEG(好ましくは、PEG1000～PEG6000)が10～80%程度の濃度で添加され、約20～40℃、好ましくは約30～37℃で約1～10分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。

モノクローナル抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、タンパク質の抗原を直接あるいは担体とともに吸着させた固相(例、マイクロプレート)にハイブリドーマ培養上清を添加し、次

に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体(細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる)またはプロテインAを加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ
5 培養上清を添加し、放射性物質や酵素などで標識したタンパク質を加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法などが挙げられる。

モノクローナル抗体の選別は、自体公知あるいはそれに準じる方法に従って行なうことができるが、通常はHAT(ヒポキサンチン、アミノブテリン、チミジン)を添加した動物細胞用培地などで行なうことができる。選別および育
10 種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1~20%、好ましくは10~20%の牛胎児血清を含むRPMI 1640培地、1~10%の牛胎児血清を含むGIT培地(和光純薬工業(株))またはハイブリドーマ培養用無血清培地(SFM-101、日水製薬(株))などを用いることができる。培養温度は、通常20~40℃、
15 好ましくは約37℃である。培養時間は、通常5日~3週間、好ましくは1週間~2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行なうことができる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。

(b) モノクロナール抗体の精製

モノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法〔例、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換法(例、DEAE)による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原結合固相またはプロテインAあるいはプロテインGなどの活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精
25 製法〕に従って行なうことができる。

〔ポリクローナル抗体の作製〕

本発明のポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法にしたがって製造することができる。例えば、免疫抗原(タンパク質の抗原)とキャリアー蛋白質との複合体をつくり、上記のモノクローナル抗体の製造法と

同様に哺乳動物に免疫を行ない、該免疫動物から本発明のタンパク質に対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行なうことにより製造できる。

哺乳動物を免疫するために用いられる免疫抗原とキャリアー蛋白質との複合体に関し、キャリアー蛋白質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免疫したハプテンに対して抗体が効率良くできれば、どの様なものをどの様な比率で架橋させてもよいが、例えば、ウシ血清アルブミン、ウシサイログロブリン、キーホール・リンペット・ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカプルさせる方法が用いられる。

また、ハプテンとキャリアーのカプリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオビリジル基を含有する活性エステル試薬等が用いられる。

縮合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュvantや不完全フロイントアジュvantを投与してもよい。投与は、通常約2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行なうことができる。

ポリクローナル抗体は、上記の方法で免疫された哺乳動物の血液、腹水など、好ましくは血液から採取することができる。

抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記の血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行なうことができる。

本発明に従えば、タンパク質遺伝子の複製又は発現を阻害することのできるアンチセンスポリヌクレオチドを、クローン化したあるいは決定されたタンパク質をコードするDNAの塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。こうしたポリペプチドは、タンパク質遺伝子のmRNAとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成又は機能を阻害することができるか、あるいはタンパク質をコードするRNAとの相互作用を介してタンパク質遺伝子の発現を調

節・制御することができる。タンパク質をコードするRNAの選択された配列に相補的なDNA、及びタンパク質をコードするRNAと特異的にハイブリダイズすることができるDNAは、生体内及び生体外でタンパク質遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療又は診断に有用である。

- 5 「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド又は核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド又は核酸とペプチドまたはタンパク質との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列又はその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。タンパク質遺伝子の5'端ヘアピンループ、5'端6-ペ
10 ースペア・リピート、5'端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、ORF翻訳開始コドン、3'端非翻訳領域、3'端パリンドローム領域、及び3'端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、タンパク質遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的なポリヌクレオチド、例えば、対象物とハイブリダイズすることができるポリヌクレオチド、「アンチセンス」であることができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシ-D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、プリン又はピリミジン塩基のN-グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸及び合成配列特異的な核酸ポリマー）又は特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（又は非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネ

ート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど)を持つもの、電荷を有する結合又は硫黄含有結合(例えば、ホスホロチオエート、ホスホジチオエートなど)を持つもの、例えば蛋白質(スクレアーゼ、スクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーレーリジンなど)や糖(例えば、モノサッカライドなど)などの側鎖基を有しているもの、インターラント化合物(例えば、アクリジン、プソラレンなど)を持つもの、キレート化合物(例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など)を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの(例えば、 α アノマー型の核酸など)であってもよい。ここで「スクレオシド」、「スクレオチド」及び「核酸」とは、プリン及びピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリン及びピリミジン、アシリル化されたプリン及びピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。修飾されたスクレオチド及び修飾されたスクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換されていてよい。

本発明のアンチセンス・ポリスクレオチド(核酸)は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸(RNA、DNA)である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリスクレオシドアミドやオリゴスクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており。例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 など

に開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有していて良く、リポゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられる
5 ことができうる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステ¹⁰リルクロロホルムート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3' 端あるいは5' 端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができうる。その他の基としては、核酸の3' 端あるいは5' 端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。
15 こうしたキャップ用の基としては、ポリエチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

本発明のDNAに実質的に相補的な塩基配列とは、例えば、本発明のDNAに相補的な塩基配列（すなわち、本発明のDNAの相補鎖）の全塩基配列あるいは部分塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列等が挙げられる。特に、本発明のDNAの相補鎖の全塩基配列うち、本発明のポリペプチドのN末端部位をコードする部分の塩基配列（例えば、開始コドン付近の塩基配列等）の相補鎖と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアンチセンスDNAが好適である。これらのアンチセンスDNAは、公知のDNA合成装置等を用いて製造することができる。

アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはタンパク質の生体内や生体外の翻訳系を用いて

調べることができる。該核酸それ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

本発明のタンパク質（配列番号：9で表わされるアミノ酸配列に配列番号：38で表わされるアミノ酸配列が挿入されたアミノ酸配列を含むタンパク質も含む）および該タンパク質をコードするDNAは、

5 (1) 本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤、

(2) 遺伝子診断剤、

(3) 本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

10 (4) 本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する各種疾病の予防および／または治療剤、

(5) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

(6) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有する各種疾病の予防および／または治療剤、

(7) 本発明のタンパク質の定量、

(8) 本発明のタンパク質に対する抗体による中和、

(9) 本発明のタンパク質をコードするDNAを有する非ヒト動物の作製などに用いることができる。

20 特に、本発明の組換え型タンパク質の発現系を用いたスクリーニング法を用いることによって、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩（以下、化合物と略記することがある）をスクリーニングすることができ、該化合物を各種疾病の予防・治療剤などとして使用することができる。

25 本発明のタンパク質をコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）および本発明のタンパク質に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する場合がある）の用途について、以下に具体的に説明する。

(1) 本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤

①本発明のタンパク質または②該タンパク質をコードするDNAを、本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤などの医薬として使用することができる。

例えば、生体内において本発明のタンパク質が減少しているためにステロールを感知することが期待できない（該タンパク質の欠乏症）患者がいる場合に、
5 ①本発明のタンパク質を該患者に投与し該タンパク質の量を補充したり、②
（イ）本発明のタンパク質をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは（ロ）対象となる細胞に本発明のタンパク質をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによつ
10 て、患者の体内におけるタンパク質の量を増加させ、該タンパク質の作用を充分に発揮させることができる。即ち、本発明のタンパク質をコードするDNAは、安全で低毒性な本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防およ
び／または治療剤として有用である。

本発明のタンパク質は、ニーマンピックタイプC症の原因遺伝子とされるN
15 PC1および発生・分化のシグナル分子とされるPatched及びコレステロール
生合成系の律速酵素であるHMG-CoA Reductaseおよび脂肪酸合成系、コレステ
ロール合成系、およびそれらの異化代謝系を支配する主要な転写調節物質である
SCAPの配列と約20%以上のホモロジーを有する部分配列を含有しており、
また上記4種のタンパクの中で、この部分配列にホモロジーを有する配列は
20 SSD配列と考えられている。[Current Opinion in Structural Biology, 8,
435-439 (1998)]。このことから、本発明のタンパク質は上記4種と同様に、
ステロール濃度を感知する機能を有していることが予想され、すなわち、高脂
血症、動脈硬化などの脂質代謝性疾患の予防および／または治療に有用である。
また、本発明のタンパク質と40%以上のホモロジーを有するNPC1の機能とし
25 ては、細胞内の脂質輸送を制御することが提唱されている[Current Opinion in
Lipidology, 9, 131-135 (1998)]。従って、NPC1と相同性が認められる
本発明のタンパク質は、細胞内の脂質輸送を制御することが予想され、各種の
脂質代謝異常症、循環器疾患、中枢性疾患、呼吸器疾患、消化器疾患・肝/胆/
脾疾患・内分泌疾患の予防および／または治療に有用である。

本発明のタンパク質を上記予防・治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、本発明のタンパク質をコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）を上記予防・治療剤として使用する場合は、本発明のDNAを単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。本発明のDNAは、そのままでも、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

例えば、本発明のタンパク質または本発明のDNAは、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、本発明のタンパク質または本発明のDNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターク、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D

ーマンニトール、塩化ナトリウムなど)などが用いられ、適當な溶解補助剤、
例えは、アルコール(例、エタノール)、ポリアルコール(例、プロピレン
リコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤(例、ポリソル
ベート80TM、HCO-50)などと併用してもよい。油性液としては、例
5 えは、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、
ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えは、緩衝剤(例えは、リン酸塩緩衝液、酢
酸ナトリウム緩衝液)、無痛化剤(例えは、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロ
カインなど)、安定剤(例えは、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコー
10 ルなど)、保存剤(例えは、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防
止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適當なアンプルに充填
される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えは、ヒトや哺
乳動物(例えは、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、
15 サルなど)に対して投与することができる。

本発明のタンパク質の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法など
により差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えは、高脂血症患者(60
kgとして)においては、一日につき約0.1mg～100mg、好ましくは
約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に
20 投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法など
によっても異なるが、例えは、注射剤の形では通常例えは、高脂血症患者(6
0kgとして)においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましく
は約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注
射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換
算した量を投与することができる。

本発明のDNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによ
り差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えは、高脂血症患者(60kg
として)においては、一日につき約0.1mg～100mg、好ましくは約1.
0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与す

る場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによつても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えれば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～20 mg程度、より好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により5投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kg当たりに換算した量を投与することができる。

（2）遺伝子診断剤

本発明のDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）における本発明のタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

15 本発明のDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics）, 第5巻, 874～879頁（1989年）、Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America), 第86巻, 2766～2770頁（1989年）などにより実施することができる。

（3）本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニング方法

本発明のDNAは、プローブとして用いることにより、本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニングに用いることができる。

すなわち本発明は、例えば、(i) 非ヒト哺乳動物の①血液、②特定の臓器、③臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii) 形質転換体等に含まれる本発明のタンパク質またはその部分ペプチドのmRNA量を測定することに

よる、本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のタンパク質のmRNA量の測定は具体的には以下のようにして行なう。

- 5 (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には痴呆ラット、肥満マウス、動脈硬化ウサギ、担癌マウスなど）に対して、薬剤（例えば、抗痴呆薬、血圧低下薬、抗癌剤、抗肥満薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

得られた細胞に含まれる本発明のタンパク質のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えばTaqManPCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノザンプロットを行うことにより解析することもできる。

(ii) 本発明のタンパク質を発現する形質転換体を前述の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれる本発明のタンパク質のmRNAを同様にして定量、解析することができる。

- 本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物のスクリーニングは、
20 (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前ないし24時間前、好ましくは30分前ないし12時間前、より好ましくは1時間前ないし6時間前）もしくは一定時間後（30分後ないし3日後、好ましくは1時間後ないし2日後、より好ましくは1時間後ないし24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に被検化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後ないし3日後、好ましくは1時間後ないし2日後、より好ましくは1時間後ないし24時間後）、細胞に含まれる本発明のタンパク質のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができ、
25 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に被検化合物を培地中に混合させ、

一定時間培養後（1日後ないし7日後、好ましくは1日後ないし3日後、より好ましくは2日後ないし3日後）、該形質転換体に含まれる本発明のタンパク質のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、本発明のタンパク質の発現量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、(イ) 本発明のタンパク質の発現量を増加させることにより、本発明のタンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を増強させる化合物、(ロ) 本発明のタンパク質の発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

該化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該細胞刺激活性を増強させる化合物は、本発明のタンパク質等の生理活性を増強するための安全で低毒性な医薬として有用である。

該細胞刺激活性を減弱させる化合物は、本発明のタンパク質等の生理活性を減少させるための安全で低毒性な医薬として有用である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って実施することができる。例えば、上記した本発明のタンパク質を含有する医薬と同様にして、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌性溶液、懸濁液剤などとすることができる。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50m

g、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者(60kgとして)においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与することができる。

(4)本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物を含有する各種疾病的予防および／または治療剤

本発明のタンパク質は前述のとおり、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。従って、本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物は、本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として用いることができる。特に、本発明のタンパク質の発現量を増加させる化合物は脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患(特に、動脈硬化症、高脂血症など)の予防および／または治療剤として用いることができる。

該化合物を本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

例えば、該化合物は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラ

チン、コーンスターク、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような5 香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施10 に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレン glycol、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80TM、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、15 ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填20 される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、25 サルなど）に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.1～100 mg、好ましくは約1.0～50 mg、より好ましくは約1.0～20 mgである。非経口的に投与する場合は、

その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～20 mg程度、より好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kg当たりに換算した量を投与することができる。

（5）本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法

本発明のタンパク質等を用いるか、または組換え型タンパク質等の発現系を構築し、該発現系を用いた、スクリーニング法を用いることによって、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングすることができる。

このような化合物には、（イ）本発明のタンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を増強する化合物、（ロ）該細胞刺激活性を減弱する化合物などが含まれる。

すなわち、本発明は、（i）本発明のタンパク質と標識したステロールとを接触させた場合と（ii）本発明のタンパク質と標識したステロールおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法においては、（i）と（ii）の場合における、例えば、該タンパク質等の細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

より具体的には、本発明は、

①ステロールを本発明のタンパク質を含有する細胞に接触させた場合と、ステ

ロールおよび試験化合物を本発明のタンパク質を含有する細胞に接触させた場合における、本発明のタンパク質を介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法、および
②ステロールを本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明のタンパク質に接触させた場合と、ステロールおよび試験化合物を本発明のDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明のタンパク質に接触させた場合における、本発明のタンパク質を介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いる本発明のタンパク質としては、
上記した本発明のタンパク質を含有するものであれば何れのものであってもよいが、本発明のタンパク質を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のタンパク質などが適している。

本発明のタンパク質を製造するには、前述の方法が用いられるが、本発明のDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。本発明のタンパク質をコードするDNA断片を宿主動物細胞に

- 導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行なうことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行なうことができる。
- したがって、本発明のスクリーニング方法において、本発明のタンパク質を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したタンパク質であってもよいし、該タンパク質を含有する細胞を用いてもよく、また該タンパク質を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。
- 本発明のスクリーニング方法において、本発明のタンパク質を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。
- 本発明のタンパク質を含有する細胞としては、該タンパク質を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。
- 細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のによる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500 r.p.m.~3000 r.p.m.) で短時間 (通常、約1分~10分) 遠心し、上清をさらに高速 (15000 r.p.m.~30000 r.p.m.) で通常30分~2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したタンパク質

と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

該タンパク質を含有する細胞や膜画分中のタンパク質の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのステロール感知能が高くなり、
5 高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング法を実施するためには、例えば、適当なタンパク質画分が必要である。

タンパク質画分としては、天然型のタンパク質画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型タンパク質画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のシグナル情報伝達作用などを示す。
10

本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物スクリーニング法を実施するためには、例えば、タンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。
15

具体的には、まず、本発明のタンパク質を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。
20
25

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なタンパク質を

発現した細胞が必要である。本発明のタンパク質を発現した細胞としては、天然型の本発明のタンパク質を有する細胞株、前述の組換え型タンパク質を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、
5 合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用
いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であつ
てもよい。

ステロール（好ましくはコレステロール）と本発明のタンパク質との結合性
を変化させる化合物のスクリーニング用キットは、本発明のタンパク質、本發
10 明のタンパク質を含有する細胞、または本発明のタンパク質を含有する細胞の
膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

①測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

15 Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清ア
ルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45 μmのフィルターで濾過滅菌し、4°Cで保存するか、あるいは
用時調製しても良い。

②本発明のタンパク質標品

20 本発明のタンパク質を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに5×10⁵個/穴で継代し、37°C、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得ら
れる化合物は、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる作用を有
する化合物であり、具体的には、(イ) 本発明のタンパク質を介して細胞刺激
活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、
25 細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜
電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを
促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物、(ロ) 該細胞刺激活
性を減弱する化合物である。

該化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

本発明のタンパク質等のステロール感知能を増強させる化合物は、本発明の
5 タンパク質の有するステロールに対する生理活性を促進することができるの
で、本発明のタンパク質の活性を促進する安全で低毒性な医薬として有用である。

本発明のタンパク質等のステロール感知能を減弱させる化合物は、本発明の
10 タンパク質の有するステロールに対する生理活性を抑制することができるの
で、本発明のタンパク質の活性を抑制する安全で低毒性な医薬として有用である。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物を上述の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って実施することができる。例えば、上記した本発明のタンパク質を含有する医薬と同様にして、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌性溶液、
15 懸濁液剤などとすることができます。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

20 該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.1～100 mg、好ましくは約1.0～50 mg、より好ましくは約1.0～20 mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なる
25 が、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kg当たりに換算した量を投与することができる。

(6) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物を含有する各種疾病的予防および／または治療剤

本発明のタンパク質は前述のとおり、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。従って、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物は、本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として用いることができる。

該化合物を本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

例えば、該化合物は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターク、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D

ーマンニトール、塩化ナトリウムなど)などが用いられ、適当な溶解補助剤、
例えば、アルコール(例、エタノール)、ポリアルコール(例、プロピレン
リコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤(例、ポリソル
ペート80TM、HCO-50)などと併用してもよい。油性液としては、例
5 えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、
ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤(例えば、リン酸塩緩衝液、酢
酸ナトリウム緩衝液)、無痛化剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロ
カインなど)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコー
10 ルなど)、保存剤(例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防
止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填
される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺
乳動物(例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、
15 サルなど)に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異
はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者(60kgとして)
においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50m
g、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、
20 その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なる
が、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者(60kgとして)
においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20
mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与する
のが好都合である。他の動物の場合も、60kg当たりに換算した量を投与す
25 ることができる。

(7) 本発明のタンパク質の定量

本発明の抗体は、本発明のタンパク質を特異的に認識することができるので、
被検液中の本発明のタンパク質の定量、特にサンドイッチ免疫測定法による定
量などに使用することができる。すなわち、本発明は、例えば、(i) 本発明

の抗体と、被検液および標識化タンパク質とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化タンパク質の割合を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質の定量法、

- 5 (ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質の定量法を提供する。

10 上記(ii)においては、一方の抗体が本発明のタンパク質のN端部を認識する抗体で、他方の抗体が本発明のタンパク質のC端部に反応する抗体であることが好ましい。

本発明のタンパク質に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体と称する場合がある）を用いて本発明のタンパク質の測定を行なえるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子の $F(ab')_2$ 、 Fab' 、あるいは Fab 画分を用いてもよい。本発明のタンパク質に対する抗体を用いる測定法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量（例えば、タンパク質量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。
15 例えれば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、
20 例えば、 $[^{125}I]$ 、 $[^{131}I]$ 、 $[^3H]$ 、 $[^{14}C]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光

物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチンーアビジン系を用いることもできる。

抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常、
5 蛋白質あるいは酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる
方法でもよい。担体としては、例えば、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等が用いられる。

サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（1次反応）、さらに標識化した本発明のモノクローナル抗体を反応させ（2次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中の本発明のタンパク質量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行なっても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は上記のそれらに準じること
15 ができる。

また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。

本発明のサンドイッチ法によるタンパク質の測定法においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体はタンパク質の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。即ち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、タンパク質のC端部を認識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原と(F)と抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B、Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を

定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B／F分離をポリエチレングリコール、上記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

5 イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させたのち、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。

10 また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果、生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

これら個々の免疫学的測定法を本発明の測定方法に適用するにあたっては、
15 特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の
条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えて本発明のタンパク質または
その塩の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参考することができる〔例えば、入江 寛編「ラジオイ
ムノアッセイ」（講談社、昭和49年発行）、入江 寛編「続ラジオイムノア
ッセイ」（講談社、昭和54年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（医学
書院、昭和53年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第2版）（医学
書院、昭和57年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第3版）（医学
書院、昭和62年発行）、「メソップ・イン・エンジモノジー（Methods in
ENZYMOLOGY）」Vol. 70(Immunochemical Techniques (Part A))、同書 Vol.
20 73(Immunochemical Techniques (Part B))、同書 Vol. 74(Immunochemical
Techniques (Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques (Part
D: Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques (Part
E: Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol.
25 121(Immunochemical Techniques (Part I: Hybridoma Technology and

Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)など参照]。

以上のように、本発明の抗体を用いることによって、本発明のタンパク質またはその塩を感度良く定量することができる。

さらに、本発明の抗体を用いて、生体内での本発明のタンパク質またはその塩を定量することによって、本発明のタンパク質の機能不全に関連する各種疾患の診断をすることができる。

また、本発明の抗体は、体液や組織などの被検体中に存在する本発明のタンパク質を特異的に検出するために使用することができる。また、本発明のタンパク質を精製するために使用する抗体カラムの作製、精製時の各分画中の本発明のタンパク質の検出、被検細胞内における本発明のタンパク質の挙動の分析などのために使用することができる。

(8) 本発明のタンパク質に対する抗体による中和

本発明のタンパク質に対する抗体の、該タンパク質に対する中和活性とは、即ち、該タンパク質の関与するシグナル伝達機能を不活性化する活性を意味する。従って、該抗体が中和活性を有する場合は、該タンパク質の関与するシグナル伝達、例えば、該タンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を不活性化することができる。従って、該タンパク質の過剰発現などに起因する疾患の予防および／または治療に用いることができる。

(9) 本発明のタンパク質をコードするDNAを有する動物の作製

本発明のDNAを用いて、本発明のタンパク質を発現するトランスジェニック動物を作製することができる。動物としては、哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）など（以下、動物と略記する場合がある）が挙げれるが、特に、マウス、ウサギなどが好適である。

本発明のDNAを対象動物に転移させるにあたっては、該DNAを動物細胞で発現させうるプロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトとして

用いるのが一般に有利である。例えば、ウサギ由来の本発明のDNAを転移させる場合、これと相同性が高い動物由来の本発明のDNAを動物細胞で発現させうる各種プロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトを、例えば、ウサギ受精卵へマイクロインジェクションすることによって本発明のタンパク質を高産生するDNA転移動物を作出できる。このプロモーターとしては、
5 例えば、ウイルス由来プロモーター、メタロチオネイン等のユビキアスな発現プロモーターも使用しうるが、好ましくは脳で特異的に発現するNGF遺伝子プロモーターやエノラーゼ遺伝子プロモーターなどが用いられる。

受精卵細胞段階における本発明のDNAの転移は、対象動物の胚芽細胞および体細胞の全てに存在するように確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において本発明のタンパク質が存在することは、作出動物の子孫が全てその胚芽細胞及び体細胞の全てに本発明のタンパク質を有することを意味する。遺伝子を受け継いだこの種の動物の子孫はその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明のタンパク質を有する。

15 本発明のDNA転移動物は、交配により遺伝子を安定に保持することを確認して、該DNA保有動物として通常の飼育環境で飼育継代を行うことができる。さらに、目的DNAを保有する雌雄の動物を交配することにより、導入遺伝子を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得し、この雌雄の動物を交配することによりすべての子孫が該DNAを有するように繁殖継代すること
20 ができる。

本発明のDNAが転移された動物は、本発明のタンパク質が高発現させられているので、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング用の動物などとして有用である。

本発明のDNA転移動物を、組織培養のための細胞源として使用することも
25 できる。例えば、本発明のDNA転移マウスの組織中のDNAもしくはRNAを直接分析するか、あるいは遺伝子により発現された本発明のタンパク質が存在する組織を分析することにより、本発明のタンパク質について分析することができる。本発明のタンパク質を有する組織の細胞を標準組織培養技術により培養し、これらを使用して、例えば、脳や末梢組織由来のような一般に培養困

難な組織からの細胞の機能を研究することができる。また、その細胞を用いることにより、例えば、各種組織の機能を高めるような医薬の選択も可能である。また、高発現細胞株があれば、そこから、本発明のタンパク質を単離精製することも可能である。

- 5 (10) S S D 含有タンパクに働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物

さらに、本発明のタンパク質などのS S D 含有タンパクに働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物は、コレステロールの生合成や吸収、またはリポタンパク質としての分泌やその細胞内への取り込みや蓄積・貯蔵、
10 あるいは放出を制御することができる。したがって、該化合物を含有してなる医薬は脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患（特に、動脈硬化症、高脂血症など）の予防・治療剤として用いることができる。

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、
15 I U P A C - I U B Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

D N A	: デオキシリボ核酸
c D N A	: 相補的デオキシリボ核酸
A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン
R N A	: リボ核酸
m R N A	: メッセンジャーリボ核酸
d A T P	: デオキシアデノシン三リン酸
d T T P	: デオキシチミジン三リン酸
d G T P	: デオキシグアノシン三リン酸

	d C T P	: デオキシシチジン三リン酸
	A T P	: アデノシン三リン酸
	E D T A	: エチレンジアミン四酢酸
	S D S	: ドデシル硫酸ナトリウム
5	G l y	: グリシン
	A l a	: アラニン
	V a l	: バリン
	L e u	: ロイシン
	I l e	: イソロイシン
10	S e r	: セリン
	T h r	: スレオニン
	C y s	: システイン
	M e t	: メチオニン
	G l u	: グルタミン酸
15	A s p	: アスパラギン酸
	L y s	: リジン
	A r g	: アルギニン
	H i s	: ヒスチジン
	P h e	: フェニルアラニン
20	T y r	: チロシン
	T r p	: トリプトファン
	P r o	: プロリン
	A s n	: アスパラギン
	G l n	: グルタミン
25	p G l u	: ピログルタミン酸
	M e	: メチル基
	E t	: エチル基
	B u	: ブチル基
	P h	: フェニル基

T C : チアゾリジン-4 (R) -カルボキサミド基
 また、本明細書中で繁用される置換基、保護基および試薬を下記の記号で表記する。

5	T o s	: p-トルエンスルフォニル
	C H O	: ホルミル
	B z l	: ベンジル
	C l ₂ Bz l	: 2, 6-ジクロロベンジル
	B o m	: ベンジルオキシメチル
10	Z	: ベンジルオキシカルボニル
	C l-Z	: 2-クロロベンジルオキシカルボニル
	B r-Z	: 2-ブロモベンジルオキシカルボニル
	B o c	: t-ブトキシカルボニル
	D N P	: ジニトロフェノール
15	T r t	: トリチル
	B u m	: t-ブトキシメチル
	F m o c	: N-9-フルオレニルメトキシカルボニル
	H O B t	: 1-ヒドロキシベンズトリアゾール
	H O O B t	: 3, 4-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4-オキソ-
20		1, 2, 3-ベンゾトリアシン
	H O N B	: 1-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシイミド
	D C C	: N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド

本明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

[配列番号：1]

25 本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号：2]

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：3〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：4〕

5 本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：5〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：6〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：7〕

配列番号：9で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：8〕

本発明のヒトSSP1タンパク質に含有されるSSDのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：9〕

本発明のヒト肝臓由来SSP1タンパク質のアミノ酸配列を示す。

20 〔配列番号：10〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：11〕

25 本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：12〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：13〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：14〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。
5

〔配列番号：15〕

配列番号：17で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巣由来SSP2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：16〕

10 本発明のヒトSSP2タンパク質に含有されるSSDのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：17〕

本発明のヒト精巣由来SSP2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：18〕

15 本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：19〕

本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：20〕

20 本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：21〕

本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

25 〔配列番号：22〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：23〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするた

めに使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：24〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

5 〔配列番号：25〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：26〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：27〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：28〕

15 配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP1タンパク質のSSDをコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：29〕

配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP2タンパク質のSSDをコードするcDNAの塩基配列を示す。

20 〔配列番号：30〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：31〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：32〕

配列番号：34で表されるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巣由来SSP2-V1タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：33〕

配列番号：35で表されるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巣由来SSP2-V2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：34〕

本発明のヒト精巣由来SSP2-V1タンパク質のアミノ酸配列を示す。

5 〔配列番号：35〕

本発明のヒト精巣由来SSP2-V2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：36〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：37〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：38〕

ゲノミクス (Genomics), 65, 137-145, 2000に記載のアミノ酸配列に挿入されているアミノ酸配列であり、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列に含まれないアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：39〕

配列番号：38で表わされるアミノ酸配列をコードするcDNAの塩基配列を示す。

20 〔配列番号：40〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：41〕

配列番号：40で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

25 〔配列番号：42〕

KIAA1377 (DNA Res., 7, 65-73(2000)) の塩基配列を示す。

〔配列番号：43〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：44〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：45〕

5 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：46〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：47〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：48〕

15 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：49〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAに含まれる未知領域を示す。

〔配列番号：50〕

20 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：51〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

25 〔配列番号：52〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：53〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニング

するために行ったPCRで増幅した領域を示す。

[配列番号：54]

本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

[配列番号：55]

5 本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

[配列番号：56]

本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

[配列番号：57]

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

10 [配列番号：58]

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

[配列番号：59]

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

後述の実施例1で得られた形質転換体エシエリヒア コリ (*Escherichia coli*) DH5 α /pTB2080は、平成12年2月2日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERM BP-7015として、平成12年1月13日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO 16351として寄託されている。

後述の実施例2で得られた形質転換体エシエリヒア コリ (*Escherichia coli*) DH5 α /pTB2081は、平成12年2月2日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERM BP-7016として、平成12年1月13日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO 16352として寄託されている。

後述の実施例5で得られた形質転換体エシエリヒア コリ (*Escherichia coli*) DH5 α /pTB2221は、平成13年3月14日から経済産業省産業技術総合研究所生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERM BP-7502として、平成13年3月8日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO 16580として寄託されている。

実施例

以下に実施例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モレキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従つた。

5 実施例 1 ヒト肝臓由来 SSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニング

ヒト肝臓由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことによりヒトSSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニングを行った。ヒト肝臓由来 Gene Pool cDNA (Invitrogen 社) 及び、HepG2細胞から精製したmRNA からランダムプライマーを用いてRT-PCRを行って取得したcDNAを用いて、配列番号：1で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：2で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。同じく配列番号：3 及び配列番号：4 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とするその下流側の配列を得た。さらに、配列番号：5 及び配列番号：6 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする 3' 下流側の配列を得た。ここで得られた3つの各 2 本鎖DNAの塩基配列を決定したところ、オーバーラップする共通配列が存在していたことから、これらの配列は同一遺伝子に由来することが判った。そこで 3 つのPCRにより得られた各cDNA断片をこの共通配列部分で制限酵素処理により接合し、最終的に配列番号：7で表されるORFとして全長3,999 塩基対 (bp) のcDNA断片を得た。このcDNA断片には配列番号：7 で表される 194 アミノ酸残基のSSD 配列を含む 配列番号：9 で表される 1,332 個のアミノ酸からなる新規なヒト SSP1 タンパク質がコードされていた。配列番号：8 で表されるSSD配列をコードする塩基配列は、配列番号：2 8 で表される。このヒト SSP1 タンパク質はヒト NPC1 タンパク質と相同性が最も高く、N末の NPC Domain の領域に 8 力所存在するシステイン残基の位置が一致しており、その両者間の相同性はアミノ酸レベルで 42.0% であった。

本発明のヒト肝臓 SSP1 タンパク質をコードする cDNA (配列番号：7)

を pUC118 (宝酒造) に導入し、得られたプラスミド pTB2080 を自己公知の方法に従い大腸菌 (Escherichia coli) DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌 (Escherichia coli) DH5 α / pTB2080 を得た。

実施例 2 ヒト精巣由来 SSP2 タンパク質をコードする cDNA のクローニング

ヒト精巣由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことによりヒトSSP2 タンパク質をコードする cDNA のクローニングを行った。ヒト精巣由来Marathon-Ready cDNA (CLONTECH 社) を用いて、配列番号：10 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとして 5' RACE をを行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。また、ヒトSSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニングの場合と同様にして、配列番号：11 及び配列番号：12 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とするその下流側の配列を得た。さらに、配列番号：13 及び配列番号：14 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする 3' 下流側の配列を得た。ここで得られた3つの各 2 本鎖DNAの塩基配列を決定したところ、オーバーラップする共通配列が存在していたことから、これらの配列は同一遺伝子に由来することが判った。この共通配列部分で接合したcDNA 断片のORF は配列番号：15 で表される 全長 3,264 塩基対 (bp) のcDNAだった。このcDNA 断片には配列番号：16 で表される 200 アミノ酸残基のSSD 配列を含む 配列番号：17 で表される 1,087 個のアミノ酸からなる新規なヒトSSP2 タンパク質がコードされていた。配列番号：16 で表されるSSD配列をコードする塩基配列は、配列番号：29 で表される。

本発明のヒト精巣由来SSP2 タンパク質をコードする cDNA (配列番号：15) を取得するために、ヒト精巣由来Marathon-Ready cDNA (CLONTECH 社) を用いて、さらにこの配列領域についてPCRを行った。配列番号：30 及び配列番号：31 で表されるオリゴ DNA をセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとして PCR をを行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。この時、オルタネーティブプライシングバリエントと思われる、ORFとして配列番号：32 及び配列番号：33 で表される、目的とする配列以外の塩基配列

を有するcDNA断片を取得した。これらは全て、配列番号：1 6で表されるSSD領域をコードする部位を含有するものの、塩基の挿入や欠失が入ることで生じるフレームシフトによりORF配列の途中にストップコドンが入るために未成熟なSSP2タンパクをコードしていた。配列番号：3 2で示されるcDNAは配列番号：3 4で表される456個のアミノ酸からなるSSP2-V1をコードし、配列番号：3 3で示されるcDNAは配列番号：3 5で表される445個のアミノ酸からなるSSP2-V2をコードしていた。

また、配列番号：3 6及び配列番号：3 7で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする3'下流側の配列を得た。これらのPCRで得られた各cDNA断片をこの共通配列部分にある制限酵素処理により接合し、最終的に配列番号：1 5で表されるcDNA断片をpT7（Novagene社）に導入し、プラスミドpTB2081を得た。得られたプラスミドpTB2081を自体公知の方法に従い大腸菌（Escherichia coli）DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌（Escherichia coli）DH5 α /pTB2081を得た。

実施例3 SSP1のヒト組織における発現およびその組織特異性の検討

ノーザン解析に用いるプローブはヒト胎児由来cDNA Libraryを用いて以下の要領でPCRを行うことにより行った。ヒト胎児由来Marathon Ready cDNA(CLONTECH社)を用いて、配列番号：1 8で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：1 9で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、得られた增幅産物を用いて配列番号：2 0で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：2 1で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、配列番号：2 2で表されるcDNAを得た。

配列番号：2 2で表されるcDNAをプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots(CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II(CLONTECH)、及びMultiple Tissue Northern Blots III(CLONTECH)に対してハイブリダイズすることにより、SSP1 mRNAの発現組織特異性を解析した(図1)。図1に示す様に、SSP1は肝特異的に発現していることが判った。

実施例4 SSP2のヒト組織における発現およびその組織特異性の検討

ノーザン解析に用いるプローブはヒト胎児由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことにより行った。ヒト胎児由来Marathon Ready cDNA (CLONTECH 社)を用いて、配列番号：2 3 で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：2 4 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、得られた増幅産物を用いて配列番号：2 5 で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：2 6 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、配列番号：2 7 で表されるcDNAを得た。

10 配列番号：2 7 で表されるcDNAをプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots (CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II (CLONTECH)、及びMultiple Tissue Northern Blots III (CLONTECH)に対してハイブリダイズすることにより、SSP2 mRNAの発現組織特異性を解析した（図2）。図2に示すように、SSP2は脳、脊髄に約6kbのmRNAとして発現され、また精巣では約4kbのmRNAとして発現されることが判った。

実施例5 ヒト脳由来 SSP2 タンパク質をコードするcDNA のクローニング

脳・脊髄に発現するSSP2遺伝子は約6kbpのmRNAと、精巣のものより長く、より上流から転写されている可能性が考えられた。また、KIAA1377として報告されたヒト脳由来ESTクローニングの配列 (DNA Res., 7, 65-73(2000)) は、上記で得たヒト精巣由来SSP2の配列を含み、さらに上流約1kbpを含んでいた（配列番号：4 2）。しかし、このKIAA1377の配列は明確に5'末端を規定するものではなかった。そこで、ヒト脳に発現するSSP2遺伝子の5'末端構造を決定した。具体的には、ヒト脳poly(A)+ RNAより配列番号：4 3 で表されるプライマーを用いて逆転写反応を行う際に、配列番号：4 4 で表されるSMART III oligo (Clontech)を混在させて反応し、5'末端における伸長鎖の変換を起こさせた。これを鑄型として、配列番号：4 5 および配列番号：4 6 でそれぞれ表される5'リン酸化プライマーを用いたPCRを行い、SSP2 5'末端領域を増幅した。増幅産物を精製した後に、ライゲーション反応を行い、産物の環状化あるいはコンカテマーナ化を行い、これを鑄型として配列番号：4 7 で表される塩基配列と配

列番号：4 8 で表される塩基配列で挟まれる領域を増幅することで、5'末端未知領域を含む増幅断片を得た。未知領域の配列を配列番号：4 9 に示す。この領域には、下流のSSP2遺伝子の翻訳枠で終始コドンも出現することから、配列番号：4 1 で表されるSSP2遺伝子には、配列番号：4 0 で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質がコードされていることが明らかとなった。これらの情報から、配列番号：5 0 で表される塩基配列と配列番号：5 1 で表される塩基配列で挟まれる領域をPCRによって得た。配列番号：1 5 で表される精巣発現型 SSP2より、配列番号：5 2 で表される塩基配列と配列番号：5 3 で表される塩基配列で挟まれる領域をPCRによって取得し、上記のPCR産物とを制限酵素によって切断後にライゲーションし、これを鋳型として配列番号：5 0 および配列番号：5 3 でそれぞれ表されるプライマーとしたPCR反応により、脳発現型SSP2 遺伝子全長を含む遺伝子を得た。全長遺伝子はpcDNA3.1(+)にサブクローニングし、プラスミド pTB2221を得た。得られたプラスミド pTB2221 を自体公知の方法に従い大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α / pTB2221を得た。

実施例 6 TaqMan PCRを用いた発現解析系の設定

SSP1のより詳細な発現解析を行うために、TaqMan PCR条件を設定した。用いたプライマーはUpper Primer（配列番号：5 4）とLower Primer（配列番号：5 5）で、検出に用いたプローブは配列番号：5 6 に示した。TaqMan PCRには、TaqMan Universal MixtureとUpper Primer 250 nM, Lower Primer 250 nM, プローブ 75 nM, 及びテンプレートDNAを混合し、95°C 15秒と60°C 60秒の40サイクルのリアルタイムPCRによってSSP1遺伝子を定量した。典型的な検量線パターンを図3に示した。

SSP2のより詳細な発現解析を行うために、TaqMan PCR条件を設定した。用いたプライマーはUpper Primer（配列番号：5 7）とLower Primer（配列番号：5 8）で、検出に用いたプローブは配列番号：5 9 に示した。TaqMan PCRには、TaqMan Universal MixtureとUpper Primer 250 nM, Lower Primer 250 nM, プローブ 75 nM, 及びテンプレートDNAを混合し、95°C 15秒と60°C 60秒の40サイクルのリアルタイムPCRによってSSP2遺伝子を定量した。典型的な検

量線パターンを図4に示した。

実施例7 TaqMan PCR法によるSSP1遺伝子発現組織特異性に関する検討

実施例6で作製したTaqMan PCRによるSSP1遺伝子発現定量系を用い、各種 Marathon Ready cDNA及び、HepG2細胞、Caco-2細胞より抽出したRNAをもとに、
5 oligo dTをプライマーとした逆転写反応によって得られたcDNAについてSSP1 mRNA発現量を定量した。結果を図5に示した。

実施例8 ノーザンプロットによるSSP1 mRNAの小腸部位特異的発現

配列番号：22で表されるcDNAをプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots (CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II (CLONTECH)、
10 及びMultiple Tissue Northern Blots III (CLONTECH)に対してハイブリダイズすることにより、SSP1 mRNAの小腸組織内の部位特異性を解析した(図6)。
図6に示す様に、SSP1は十二指腸、空腸に特異的に発現していることが判った。

実施例9 SSP1遺伝子の細胞内コレステロールレベルによる発現変化

HepG2細胞に図中に示した処理を1日間行い、RNAを抽出、oligo dTをプライマーとした逆転写反応を行い、実施例6で示したSSP1 mRNA発現量定量系を用いてSSP1 mRNAの発現量の変化を解析した。具体的にはHepG2細胞を24穴プレートに培養し、無血清D-MEM培地(serum free)、10% FBS存在下(10% FBS)、
15 25-hydroxycholesterol 5 μg/ml (25-OH)、ウサギβ VLDL 100 μg-TC/ml (β VLDL)、Atrovastatin 1 μM (ATOS)、5 mM hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP
β CD)、10 μM progesterone (Progesterone)、及び100 μM dibutyl-cyclic AMP
20 (db-cAMP)の存在下に24時間インキュベートし、これらから抽出したRNA中のSSP1 mRNA発現量を内部標準として測定したGAPDH mRNAに対する割合(%)として求めた。結果を図7に示した。これらの結果からSSP1 mRNAはコレステロール負荷条件(β VLDL、25OH、10% FBS)で発現低下し、逆に無血清条件やさらにHP β CDによってコレステロールを減少せしめた条件では発現上昇した。これらの結果からSSP1 mRNAはステロールレベルによって発現制御を受けることが示された。

実施例10 TaqMan PCRによるSSP2遺伝子の神経系細胞株での神経芽細胞種特異的発現、IMR-32細胞での分化依存性発現誘導

IMR-32細胞を 2.5×10^5 cells/well (6 well plate)で一夜培養し、1mM dibutyl cyclic AMP (db-cAMP)、10 μ M Bromo deoxyuridine (BrDU)、1mM db-cAMP/10 μ M BrDU、及び分化誘導剤非添加の4種の条件で14日間培養を行った。7日目、14日目の各細胞からRNAを抽出後、TaqMan PCRにより SSP2 mRNA の定量を行った。10 μ M BrDUによって形態的にも神経細胞分化を遂げた細胞において SSP2 mRNA の発現誘導が認められた（図8）。

実施例 1 1 SSP1安定過剰発現型HepG2細胞の取得

HepG2細胞にSSP1遺伝子をpcDNA3.1 (+)-mycベクター (Invitrogen) にサブクローニングし、得られたC末端Mycタグ付加真核細胞発現用プラスミドを HepG2細胞にリポフェクション法によりトランスフェクションし、500 ug/ml G418存在下に培養を行い、G418耐性株を取得した。これらの細胞について TaqMan PCRにより SSP1 mRNA の発現量を定量し、SSP1 mRNA 安定高発現細胞4株を取得した。これらの細胞のSSP1 mRNA 発現量を表に示す。またSSP1タンパクのアミノ酸番号 33-273をコードする遺伝子をpET 21 (+)ベクター (Novagen) にサブクローニングし、大腸菌で產生したSSP1部分タンパクを抗原として定法によりポリクローナル抗体を得た。抗原タンパクのアミノ酸配列を配列番号（抗原AP-1）に示す。本抗体（AP-1）を用いて SSP1安定発現細胞4株の細胞抽出液中のSSP1タンパク発現をWestern blotting法により検討した結果、安定発現細胞のSSP1 mRNA レベルに相応し、SSP1タンパクの產生が認められた（図9および表1）。

[表1]

Copies % of GAPDH	MH5	MH15	MH17	MH18	Hep G2
mean	7.9	23.9	50.9	3.2	1.4
SD	0.5	2.8	3.0	0.3	0.2

実施例 1 2 SSP1安定過剰発現型HepG2細胞におけるApoBリポタンパク分泌の低下

上記で得られた安定発現細胞の24時間のApoBリポタンパク産生を親株の HepG2細胞と比較した。ApoBリポタンパクの定量には抗ヒトapoBヤギポリクローナル抗体と抗ヒトapoBマウスモノクローナル抗体のサンドイッチEIA法を用

いた。定量にはヒトLDLを標準物質に用い、上清中に分泌されたApoBリポタンパク濃度をヒトLDL換算値で示した。その結果SSP1安定発現細胞でApoB産生分泌の低値が認められた。また、これらの細胞株では、オレイン酸添加によるapoBリポタンパク分泌の促進作用が消失していた（図10および表2）。

5 [表2]

Conditions				
1 5% LPDS				
2 5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol		
3 5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol	+	Cl-976
4 5% LPDS	+	Atrvastatin		
5 5% LPDS	+	oleate (BSA complex)		
6 5% LPDS	+	β VLDL		
7 5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol		β VLDL
8 Serum free				
9 5% FBS				

実施例13 SSP2 mRNAのアルツハイマー患者脳部位特異的発現誘導

TaqMan PCRを用いて正常人、アルツハイマー患者の脳各部位におけるSSP2 mRNA発現レベルを定量した。実験に用いた脳部位別cDNAはBioChain社より購入10 した。定量の結果、SSP2 mRNAは正常では小脳・海馬・扁桃体などの脳部位に局在的に発現しているのに対し、アルツハイマー患者脳では頭頂葉・後頭葉・側頭葉などの大脳半球各部位にも発現していた（図11）。

産業上の利用可能性

15 本発明のタンパク質はステロール感知能を有し、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていることから、脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患（特に、動脈硬化症、高脂血症など）の予防・治療剤として用いることができ、該ステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング20 に用いることもできる。

請求の範囲

1. 配列番号：1 6 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩。
- 5 2. 配列番号：1 7 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
3. 配列番号：3 4 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
4. 配列番号：3 5 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
- 10 5. 配列番号：4 0 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
6. 配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩。
- 15 7. 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第22番目～第1332番目のアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項6記載のタンパク質またはその塩。
8. ①請求項1記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質をコードする塩基配列を含有するDNAを含有するDNA。
- 20 9. ①配列番号：7 で表される塩基配列の第64番目～第3999番目の塩基配列、②配列番号：1 5 で表される塩基配列、③配列番号：3 2 で表される塩基配列、④配列番号：3 3 で表される塩基配列または⑤配列番号：4 1 で表される塩基配列を含有する請求項8記載のDNA。
- 25 10. 請求項8記載のDNAを含有する組換えベクター。
11. 請求項10記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。
12. 請求項11記載の形質転換体を培養し、該タンパク質を生成せしめるこ

とを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩の製造法。

5 13. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩に対する抗体。

14. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有する医薬。

15. 請求項 8 記載のDNAを含有する医薬。

16. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤である請求項 1 4 または請求項 1 5 記載の医薬。

17. 請求項 8 記載のDNAまたは請求項 1 3 記載の抗体を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の診断剤。

18. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を用いることを特徴とする①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

19. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有してなる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

20. 請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリーニング用キットを用いて得られる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②

配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩。

21. 請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩。
22. 請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神經障害の予防・治療剤。
23. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を用いることを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。
24. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有することを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット。
25. 請求項 2 3 記載のスクリーニング方法または請求項 2 4 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ

酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩。

26. 請求項 23 記載のスクリーニング方法または請求項 24 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。
27. 請求項 23 記載のスクリーニング方法または請求項 24 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神經障害の予防・治療剤。
28. 請求項 8 記載のDNAまたはその一部を用いることを特徴とする①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のmRNA の定量方法。
29. 請求項 13 記載の抗体を用いることを特徴とする①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の定量方法。
30. 請求項 28 または請求項 29 記載の定量方法を用いることを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の機能が関連する疾患の診断方法。
31. 請求項 28 記載の定量方法を用いることを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。
32. 請求項 31 記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項 1

記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩。

33. 請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1
5 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

34. 請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1
記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一も
10 しくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を増加さ
せる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂
血症、神経変性疾患または神經障害の予防・治療剤。

35. 請求項29記載の定量方法を用いることを特徴とする、細胞内の①請求
項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同
15 一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のタンパク質
量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。

36. 請求項35記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内にお
ける①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ
酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の
20 タンパク質量を変化させる化合物またはその塩。

37. 請求項35記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内にお
ける①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ
酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の
タンパク質量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

25 38. 請求項35載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内におけ
る①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸
配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のタ
ンパク質量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、
動脈硬化症、高脂血症または神經障害の予防・治療剤。

3 9. S S D 含有タンパク質に働く細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤。

4 0. 哺乳動物に対して、①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8
5 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含
有するタンパク質またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、
肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療
方法。

4 1. 哺乳動物に対して、請求項 8 記載のD N A の有効量を投与することを特
徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経
障害の予防・治療方法。

4 2. 哺乳動物に対して、請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項
1 9 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタ
ンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは實
質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進
15 する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、
癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法。

4 3. 哺乳動物に対して、請求項 2 3 記載のスクリーニング方法または請求項
2 4 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタ
ンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは實
質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール
感知能を増強させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とす
る糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の
予防・治療方法。

25 4 4. 哺乳動物に対して、請求項 3 1 記載のスクリーニング方法を用いて得ら
れうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるア
ミノ酸配列と同一もしくは實質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク
質の発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴
とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障

害の予防・治療方法。

45. 哺乳動物に対して、S S D 含有タンパク質に働く細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障

5 害の予防・治療方法。

46. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の使用。

10 47. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項 8 記載のD N A の使用。

48. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の使用。

49. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための哺乳動物に対して、請求項 2 3 記載のスクリーニング方法または請求項 2 4 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の使用。

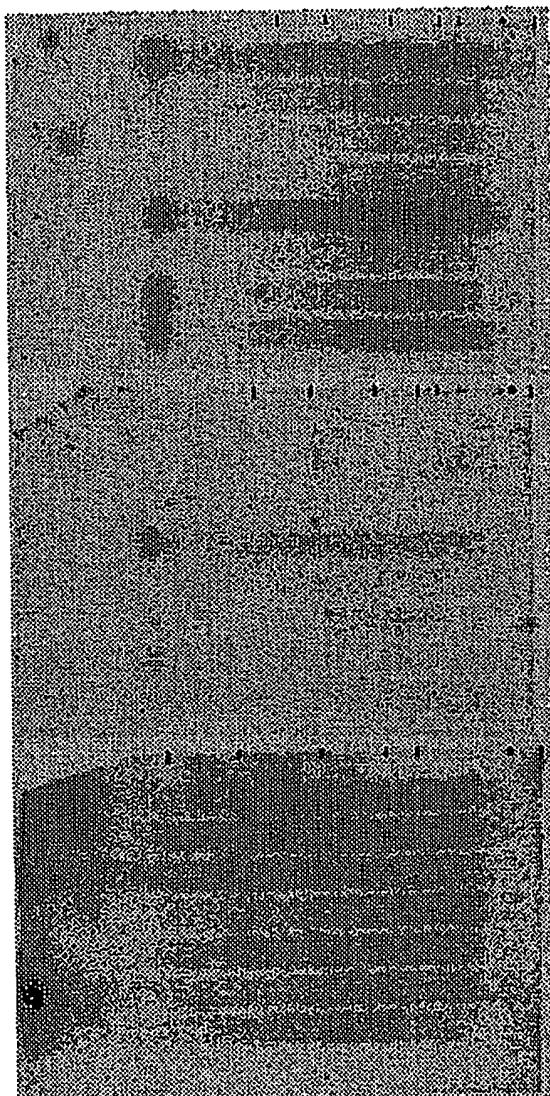
25 50. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項 3 1 記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。

51. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するためのS S D含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の使用。

1/11

☒ 1

9.5 kb
7.5
4.4
2.4
1.35



heart
brain
placenta
lung
liver
skeletal muscle
kidney
pancreas

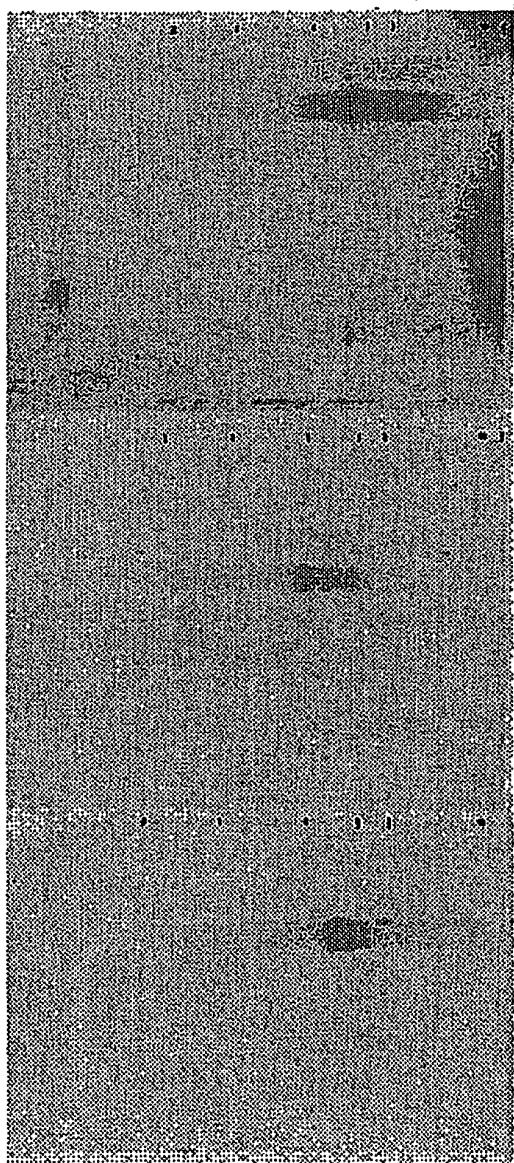
spleen
thymus
prostate
testis
ovary
small intestine
colon
PBL

stomach
thyroid
spinal cord
lymph node
trachea
adrenal gland
bone marrow

2/11

N

9.5
7.5
4.4
2.4
1.35



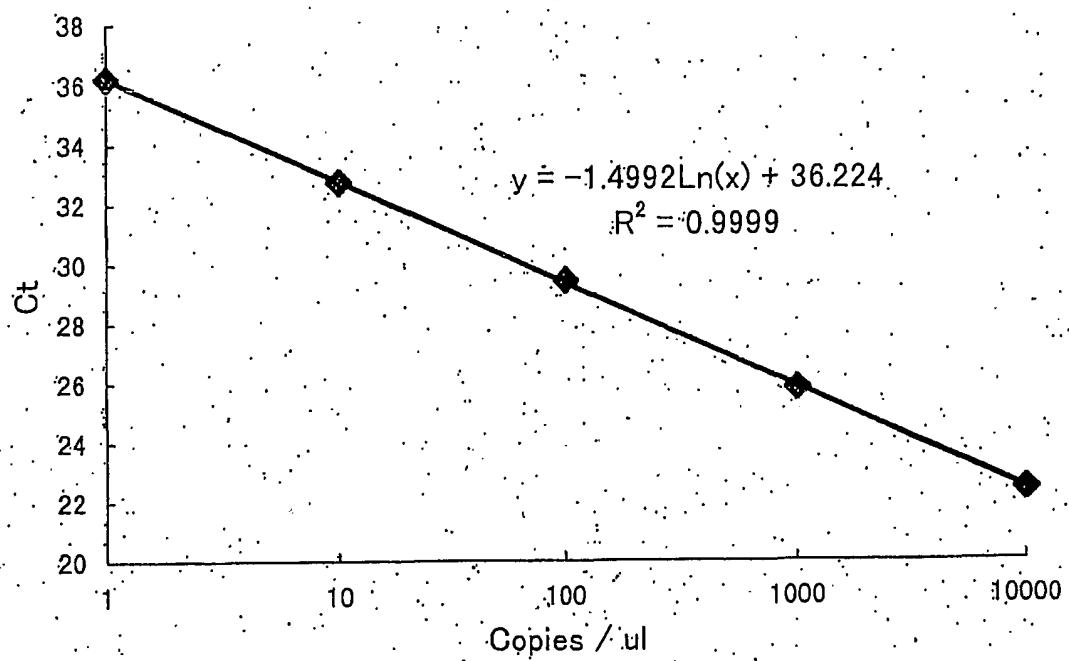
heart
brain
placenta
lung
liver
skeletal muscle
kidney
pancreas

spleen
thymus
prostate
testis
ovary
small intestine
colon
PBL

stomach
thyroid
spinal cord
lymph node
trachea
adrenal gland
bone marrow

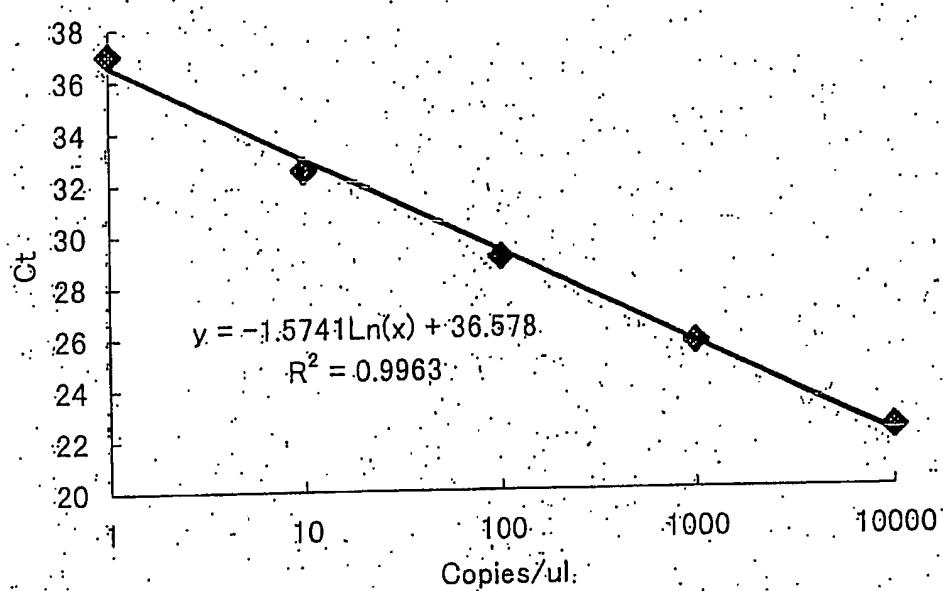
3/11

☒ 3



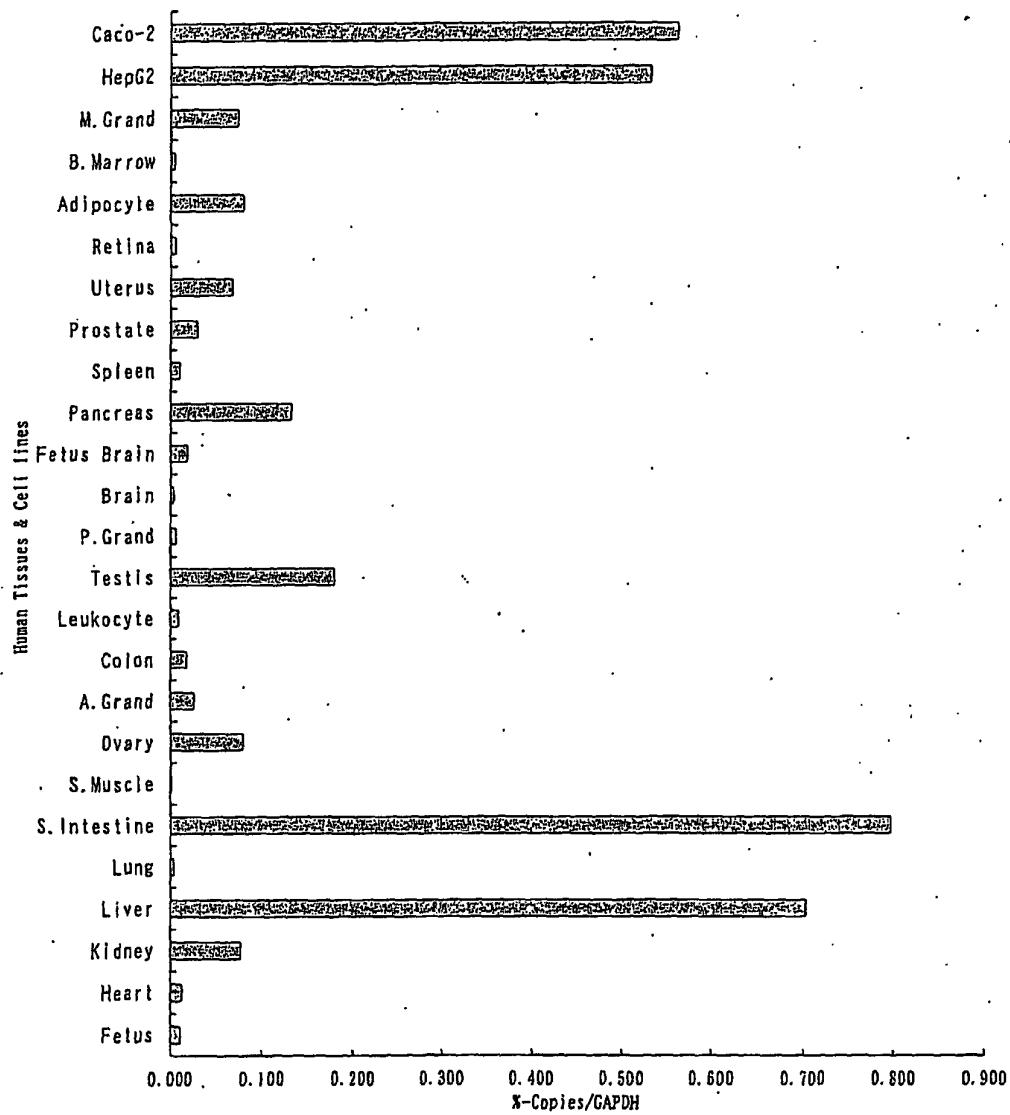
4/11

☒ 4



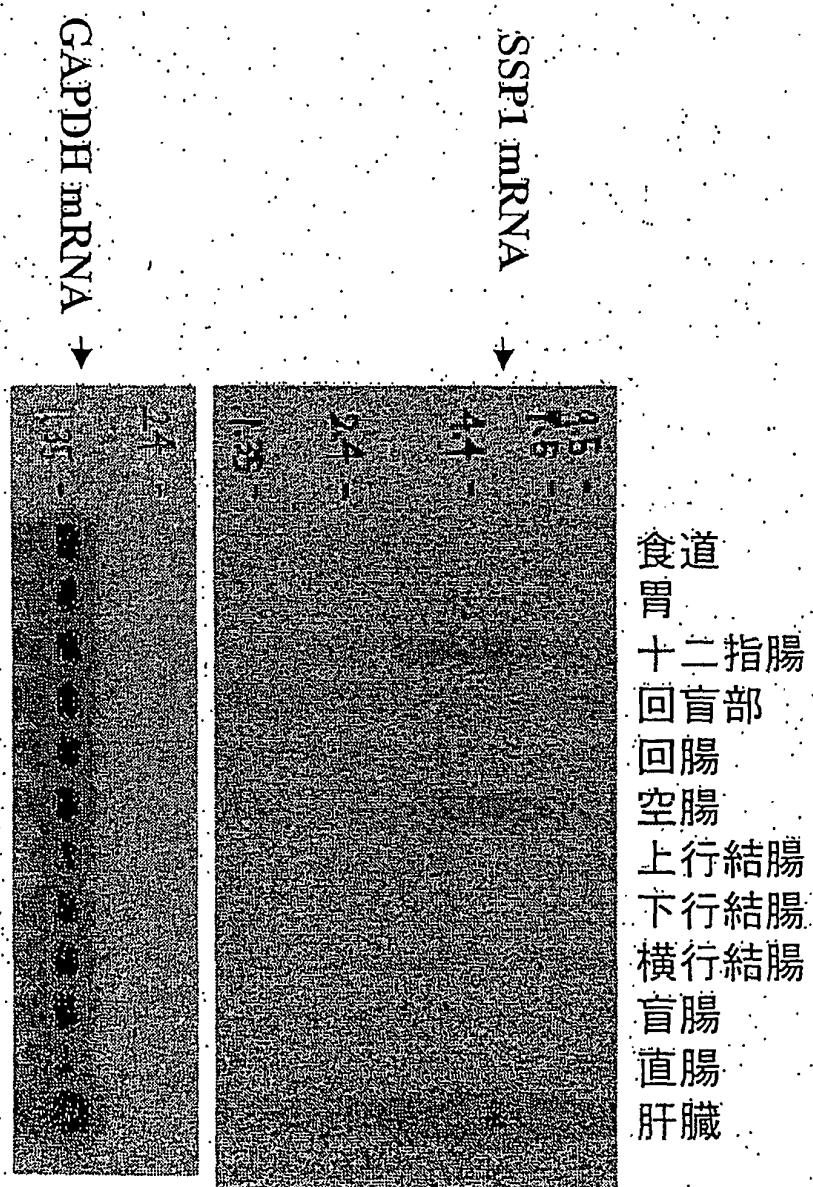
5/11

☒ 5.



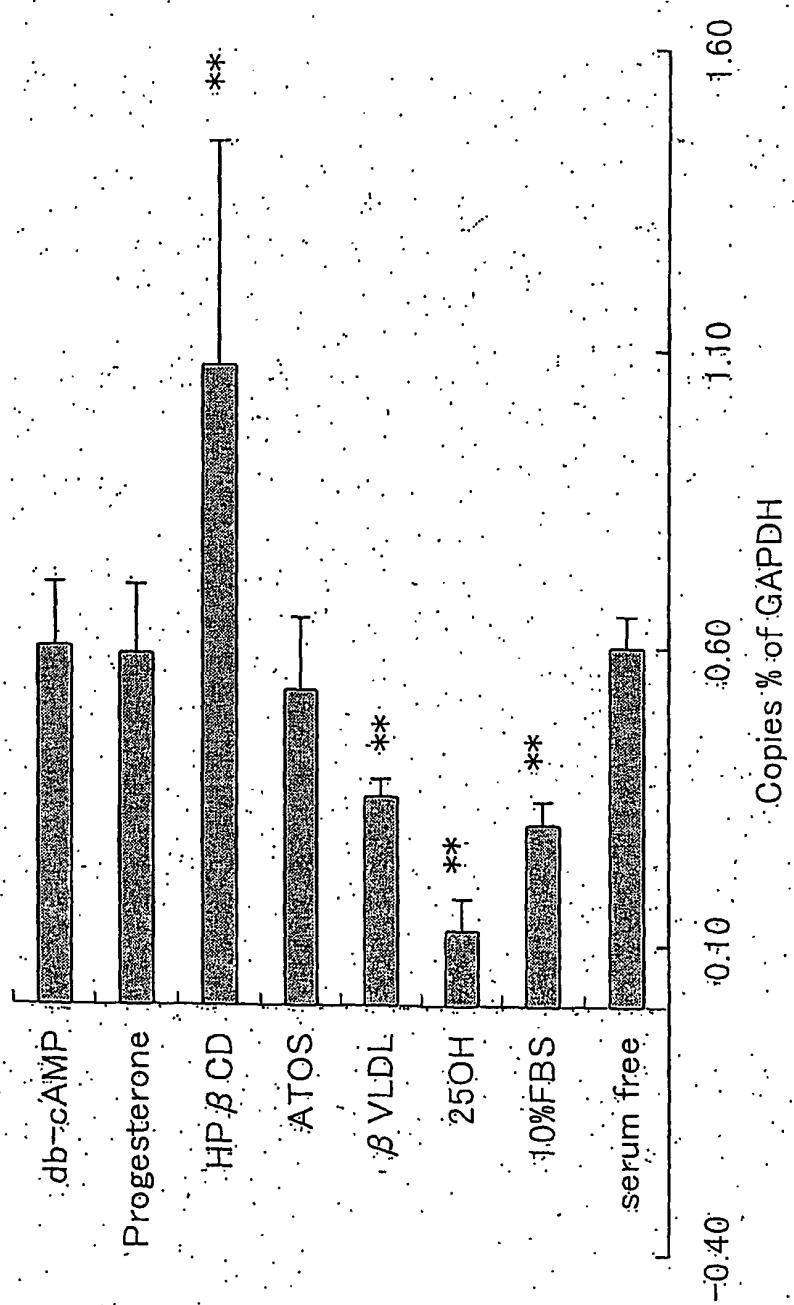
6/11

図 6



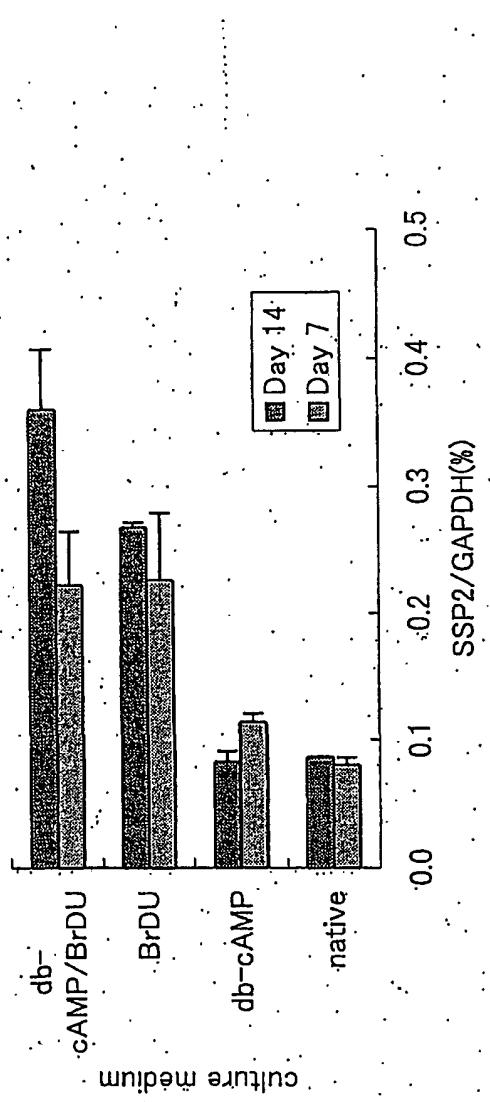
7/11

図 7



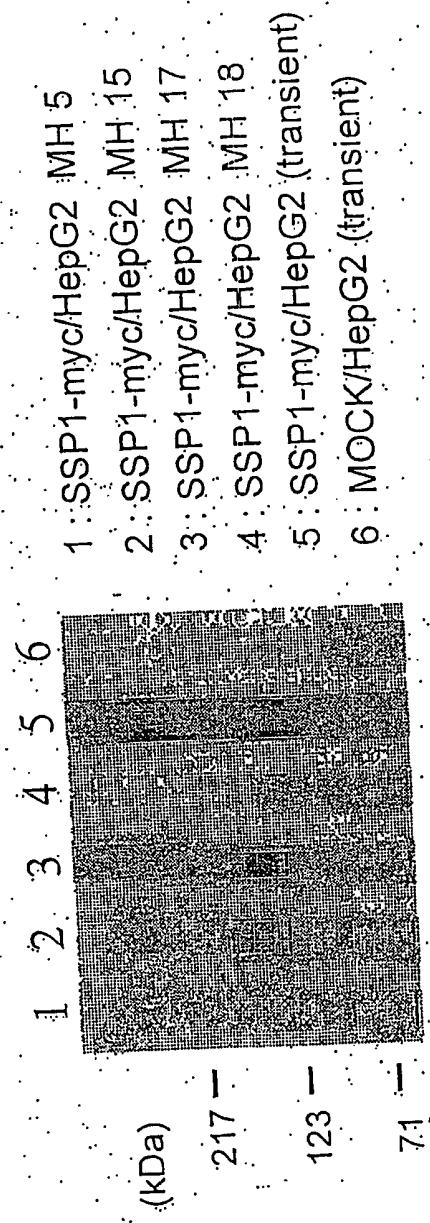
8/11

☒ 8



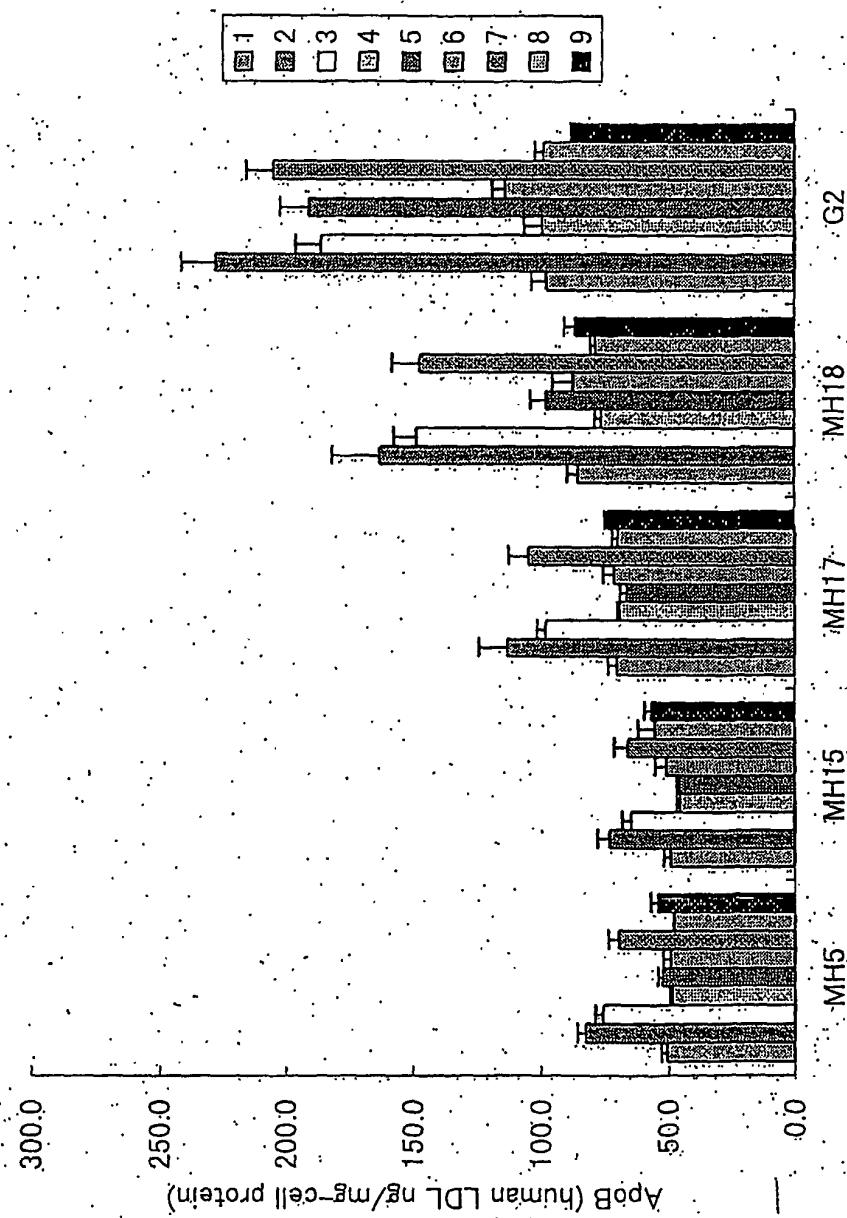
9/11

図 9



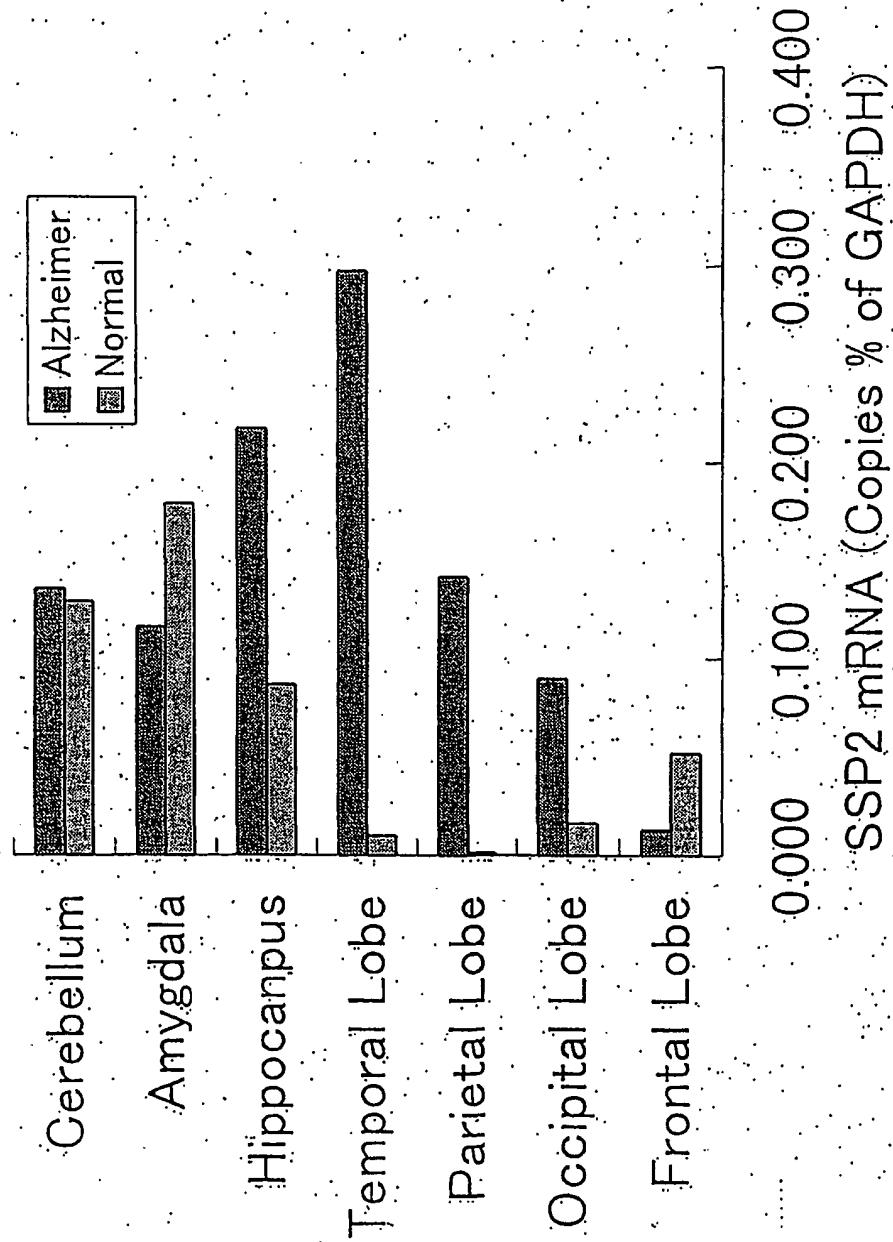
10/11

图 1 O



11/11

図 1 1



SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel Protein, its production and use

<130> 2703WOOP

<150> JP2000-088595

<151> 2000-03-24

<160> 59

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 1

ccagtcaaggc cagggttgta a

21

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 2

cacacggctg caggagtcat ag

22

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 3

cctctacacc ggccccaaca c

21

<210> 4

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 4

gggcccctag gaagaagcag at

22

<210> 5

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 5

ccatggctt ctctcciac ttg

23

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 6

tcaagggca gtcacaagga agat

24

<210> 7

<211> 3999

<212> DNA

<213> Human

<400> 7

atggcggagg ccggccctgag gggctggctg ctgtgggccc tgctcctgcg ctggccag 60
agtgagccct acacaaccat ccaccagcct ggctactgcg ccttctatga cgaatgtggg 120
aagaacccag agctgtctgg aagccatcatg acacitccatc acgtgtccctg cctgtccaac 180
acgccggccc gcaagatcac aggtgatcac ctgtatcttat tacagaagat ctggccccgc 240
ctctacaccg gccccaaacac ccaaggctgc tgctccgcca agcagcttgt atcactggaa 300
gcgagctgt cgatcaccaa ggccctccct acccgctgcc cagcctgcgc tgacaatttt 360
gtgaacctgc actgccacaa cacgtgcagc cccaatcaga gcctcttcat caatgtgacc 420
cgcggtggccc agcttagggc tggacaactc ccagctgggg tggccatata ggccttctac 480
cagcatagct ttggcgagca gagctatgac tccgtcagcc gtgtgcgcgt ccctgcagct 540
gccacgcgtgg ctgtgggcac catgtgtggc gtgtatggct ctggcccttg caatgcccag 600

cgctggctca acttccaggg agacacaggg aatggcttgg ccccactgga catcaccc 660
cacctcttgg agcctggcca ggccgtgggg agtgggattc agcctctgaa tgagggggtt 720
gcacgttgca atgagtccta aggtgacgac gtggcgacct gctcctgcca agacttgtct 780
gcatccgttc ctgccatagc ccgcggccag gccctcgact ccaccttcta cctggggccag 840
atgccggca gtcgtggctt catcatcatc ctctgctctg tcttcgtgtt ggtcaccatc 900
ctgcttgtgg gatccgtgtt ggccccggcc agggacaaaa gcaagatggt ggaccccaag 960
aagggcacca gcctctctga caagctcagc ttctccaccc acaccctctt tgccagttc 1020
ttccagggct gggcacgtt ggtggcttgc tggcccttgc ccattttgtt gctatctgtc 1080
atcccgggtgg tggcccttggc agcgggcctt gtcatttacag aactcaactac ggaccccgig 1140
gagctgtgtt cggcccccaa cagccaaagcc cggagtgaga aagctttcca tgaccagcat 1200
ttcggccctt tcttccgaac caaccagggtt atccgtacgg ctcctaaccg gtccagctac 1260
aggtatgact ctctgtgtt gggcccaag aactttagcg gaatccgttgc ccgttggactt 1320
ctgttgagc tgcgttgcgtt gcaggagagg ctgcggcacc tccaggtatg gtccggccaa 1380
gcacagcgca acatctccctt gcaggacatc tgctacgccc ccctcaatcc ggacaataacc 1440
agtctctacg actgtgtcat caacagccctt ctgcgttgcattt tccagaacaa ccgcacgttc 1500
ctgtgttgc tca cagccaaacca gacactgtatg gggcagaccc cccaaatgtca ctggaggac 1560
catttttgtt actgtgtccaa tgccctgttcc accttcaagg atggcacatc cctggccctt 1620
agctgtcatgg ctgactacgg ggccctgttcc ttcccttcc ttgcattgg ggggtacaaa 1680
ggaaaggact attctgaggc agaggccctt atcatgacgt tctccctcaa caattaccct 1740
gccggggacc cccgtctggc ccaggccaaag ctgtggagg aggcccttcc agaggaaatg 1800
cgagcccttcc agcgtcggtt ggctggcatg ttccaggatca cgttcatggc tgagcgctt 1860
ctggaaagacg agatcaatcg caccacagctt gaagacccgttcc catctttgc caccagctac 1920
atttgtcatat tccgttacat ctctgtggcc ctggccagctt attccagttgc gagccgatgtt 1980

atggtggact ccaaggccac gctgggcctc ggccccgtgg ccgtggicct gggagcagtc 2040
atggctgcca tggctttttt ctccctacttg ggtatccgct cctcccttgtt catccctgcaa 2100
gtggttccctt tcctggcgctt gtcccgcccccc gcigataaca tcttcattttt tggttcgag 2160
taccagaggc tgccccggag gcctggggag ccacgagagg tccacattgg gcgagcccta 2220
ggcagggggg ctcccagcat gctgttgtgc agccctcttg aggccatctg ttcttccta 2280
ggggcccttga cccccatgcc agctgtgcgg acctttgccc tgacctctgg ccttgcagtg 2340
atcccttactt tcctccctgca gatgtcagcc ttgtggccc tgctctccctt ggacagcaag 2400
aggcagggagg cctcccggtt ggacgtctgc tgctgtgtca agccccagga gctgcccccg 2460
cctggccagg gagaggggctt cctgcttggc ttcttccaaa aggcttatgc ccccttcctg 2520
ctgcactgga tcaactcgagg tgggtgtgtc tgctgtttt tcgcccctgtt cggagtgagc 2580
ctctactcca tggccacat cagcgtggga ctggaccagg agctggccctt gccaaggac 2640
tcgttacactgc ttgacttattt cctctttctg aaccgttact tcgaggtggg ggccccggtg 2700
tactttgtta ccaccttggg ctacaacttc tccagcgagg ctggatgaa tgccatctgc 2760
tccagtgcag gctgcaacaa ctctcccttc acccagaaga tccagttatgc cacagatttc 2820
cttgcaggactt ctacactggc catccctgccc tcctccctggg tggatgactt catgtactgg 2880
cttgcaggactt ctcctgtgtc ccgcctttat atatctggcc ccaataaggaa caagtctgc 2940
ccctcgaccg tcaactctctt gaactgcctt aagaactgca tgagcatcac gatgggtctt 3000
gttgcaggactt cgggtggagca gttccataag tatcttccctt ggtttttttt gacccggccc 3060
aacatcaaattt gtcccaaagg cgccctggca gcatacagca cctctgtgaa ctgtacttca 3120
gatggccagg ttttagccctc caggttcatg gcctatcaca agccccctgaa aaactcacag 3180
gattacacag aagctctgctt ggcagctcga gagctggcag ccaacatcac tgctgaccctg 3240
cgaaaatgtc ctgaaacaga cccggctttt gaggcttcc cctacacatc caccaatgtg 3300
ttttatgagc agtacactgac catccctccctt gagggtctt tcatgtctag cctctgcctt 3360

gtgcccacct tcgcgtcgtc ctgcctcccg ctgggcctgg acctgcgcgtc cggcctccgtc 3420
aacctgcgtc ccatttgtcat gatcctcggt gacactgtcg gcttcatggc cctgtggggc 3480
atcagttaca atgcgtgttc cctcatcaac ctggctcggt cggggcat gctgtgggag 3540
tttgcgtccc acattaccgg ctcccttgcc aicagcacca agcccacctg gctggagagg 3600
gccaaagagg ccaccatgtc tatgggaagt gcgggttttgc caggtgtggc catgaccaac 3660
ctgcctggca tccttgtcct gggccctcgcc aaggcccagc tcattcagat ctctcttc 3720
cgccctaacc tcctgatcac tctgcgtggc ctgcgtcatg gcttggtctt cctgcccgtc 3780
atcctcagct acgtggggcc tgacgttaac ccggctctgg cactggagca gaagcgggct 3840
gaggaggcgg tggcagcagt catggtggtcc tcttgcccaa atcacccttc ccgagtcctc 3900
acagctgaca acatctatgt caaccacagc tttaagggtt ctatcaaagg tgctgtgtcc 3960
atcagcaact tctgccccaa caatggcgg cagttctga 3999

<210> 8

<211> 194

<212> PRT

<213> Human

<400> 8

Phe Met Ala Glu Arg Ser Leu Glu Asp Glu Ile Asn Arg Thr Thr Ala

5

10

15

Glu Asp Leu Pro Ile Phe Ala Thr Ser Tyr Ile Val Ile Phe Leu Tyr

20

25

30

Ile Ser Leu Ala Leu Gly Ser Tyr Ser Ser Trp Ser Arg Val Met Val

35

40

45

Asp Ser Lys Ala Thr Leu Gly Leu Gly Val Ala Val Val Leu Gly

50

55

60

Ala Val Met Ala Ala Met Gly Phe Phe Ser Tyr Leu Gly Ile Arg Ser

65

70

75

80

Ser Leu Val Ile Leu Gin Val Val Pro Phe Leu Val Leu Ser Val Gly

85

90

95

Ala Asp Asn Ile Phe Ile Phe Val Leu Glu Tyr Gln Arg Leu Pro Arg

100

105

110

Arg Pro Gly Glu Pro Arg Glu Val His Ile Gly Arg Ala Leu Gly Arg

115

120

125

Val Ala Pro Ser Met Leu Leu Cys Ser Leu Ser Glu Ala Ile Cys Phe

130

135

140

Phe Leu Gly Ala Leu Thr Pro Met Pro Ala Val Arg Thr Phe Ala Leu

145

150

155

160

Thr Ser Gly Leu Ala Val Ile Leu Asp Phe Leu Leu Gln Met Ser Ala

165

170

175

Phe Val Ala Leu Leu Ser Leu Asp Ser Lys Arg Gln Glu Ala Ser Arg

180

185

190

Leu Asp

<210> 9

<211> 1332

<212> PRT

<213> Human

<400> 9

Met Ala Glu Ala Gly Leu Arg Gly Trp Leu Leu Trp Ala Leu Leu Leu
5 10 15

Arg Leu Ala Gln Ser Glu Pro Tyr Thr Thr Ile His Gln Pro Gly Tyr
20 25 30

Cys Ala Phe Tyr Asp Glu Cys Gly Lys Asn Pro Glu Leu Ser Gly Ser
35 40 45

Leu Met Thr Leu Ser Asn Val Ser Cys Leu Ser Asn Thr Pro Ala Arg
50 55 60

Lys Ile Thr Gly Asp His Leu Ile Leu Leu Gln Lys Ile Cys Pro Arg
65 70 75 80

Leu Tyr Thr Gly Pro Asn Thr Gln Ala Cys Cys Ser Ala Lys Gln Leu
85 90 95

Val Ser Leu Glu Ala Ser Leu Ser Ile Thr Lys Ala Leu Leu Thr Arg
100 105 110

Cys Pro Ala Cys Ser Asp Asn Phe Val Asn Leu His Cys His Asn Thr
115 120 125

Cys Ser Pro Asn Gln Ser Leu Phe Ile Asn Val Thr Arg Val Ala Gln
130 135 140

Leu Gly Ala Gly Gln Leu Pro Ala Val Val Ala Tyr Glu Ala Phe Tyr
145 150 155 160

Gln His Ser Phe Ala Glu Gln Ser Tyr Asp Ser Cys Ser Arg Val Arg
165 170 175

Val Pro Ala Ala Ala Thr Leu Ala Val Gly Thr Met Cys Gly Val Tyr

180 185 190
Gly Ser Ala Leu Cys Asn Ala Gln Arg Trp Leu Asn Phe Gln Gly Asp
195 200 205
Thr Gly Asn Gly Leu Ala Pro Leu Asp Ile Thr Phe His Leu Leu Glu
210 215 220
Pro Gly Gln Ala Val Gly Ser Gly Ile Gln Pro Leu Asn Glu Gly Val
225 230 235 240
Ala Arg Cys Asn Glu Ser Gln Gly Asp Asp Val Ala Thr Cys Ser Cys
245 250 255
Gln Asp Cys Ala Ala Ser Cys Pro Ala Ile Ala Arg Pro Gln Ala Leu
260 265 270
Asp Ser Thr Phe Tyr Leu Gly Gln Met Pro Gly Ser Leu Val Leu Ile
275 280 285
Ile Ile Leu Cys Ser Val Phe Ala Val Val Thr Ile Leu Leu Val Gly
290 295 300
Phe Arg Val Ala Pro Ala Arg Asp Lys Ser Lys Met Val Asp Pro Lys
305 310 315 320
Lys Gly Thr Ser Leu Ser Asp Lys Leu Ser Phe Ser Thr His Thr Leu
325 330 335
Leu Gly Gln Phe Phe Gln Gly Trp Gly Thr Trp Val Ala Ser Trp Pro
340 345 350
Leu Thr Ile Leu Val Leu Ser Val Ile Pro Val Val Ala Leu Ala Ala
355 360 365

10/59

Gly Leu Val Phe Thr Glu Leu Thr Thr Asp Pro Val Glu Leu Trp Ser
370 375 380
Ala Pro Asn Ser Gln Ala Arg Ser Glu Lys Ala Phe His Asp Gln His
385 390 395 400
Phe Gly Pro Phe Phe Arg Thr Asn Gln Val Ile Leu Thr Ala Pro Asn
405 410 415
Arg Ser Ser Tyr Arg Tyr Asp Ser Leu Leu Leu Gly Pro Lys Asn Phe
420 425 430
Ser Gly Ile Leu Asp Leu Asp Leu Leu Glu Leu Leu Glu Leu Gln
435 440 445
Glu Arg Leu Arg His Leu Gln Val Trp Ser Pro Glu Ala Gln Arg Asn
450 455 460
Ile Ser Leu Gln Asp Ile Cys Tyr Ala Pro Leu Asn Pro Asp Asn Thr
465 470 475 480
Ser Leu Tyr Asp Cys Cys Ile Asn Ser Leu Leu Gln Tyr Phe Gln Asn
485 490 495
Asn Arg Thr Leu Leu Leu Thr Ala Asn Gln Thr Leu Met Gly Gln
500 505 510
Thr Ser Gln Val Asp Trp Lys Asp His Phe Leu Tyr Cys Ala Asn Ala
515 520 525
Pro Leu Thr Phe Lys Asp Gly Thr Ala Leu Ala Leu Ser Cys Met Ala
530 535 540
Asp Tyr Gly Ala Pro Val Phe Pro Phe Leu Ala Ile Gly Gly Tyr Lys

11/59

545 550 555 560
Gly Lys Asp Tyr Ser Glu Ala Glu Ala Leu Ile Met Thr Phe Ser Leu
565 570 575
Asn Asn Tyr Pro Ala Gly Asp Pro Arg Leu Ala Gln Ala Lys Leu Trp
580 585 590
Glu Glu Ala Phe Leu Glu Glu Met Arg Ala Phe Gln Arg Arg Met Ala
595 600 605
Gly Met Phe Gln Val Thr Phe Met Ala Glu Arg Ser Leu Glu Asp Glu
610 615 620
Ile Asn Arg Thr Thr Ala Glu Asp Leu Pro Ile Phe Ala Thr Ser Tyr
625 630 635 640
Ile Val Ile Phe Leu Tyr Ile Ser Leu Ala Leu Gly Ser Tyr Ser Ser
645 650 655
Trp Ser Arg Val Met Val Asp Ser Lys Ala Thr Leu Gly Leu Gly Gly
660 665 670
Val Ala Val Val Leu Gly Ala Val Met Ala Ala Met Gly Phe Phe Ser
675 680 685
Tyr Leu Gly Ile Arg Ser Ser Leu Val Ile Leu Gln Val Val Pro Phe
690 695 700
Leu Val Leu Ser Val Gly Ala Asp Asn Ile Phe Ile Phe Val Leu Glu
705 710 715 720
Tyr Gln Arg Leu Pro Arg Arg Pro Gly Glu Pro Arg Glu Val His Ile
725 730 735

12/59

Gly Arg Ala Leu Gly Arg Val Ala Pro Ser Met Leu Leu Cys Ser Leu
740 745 750
Ser Glu Ala Ile Cys Phe Phe Leu Gly Ala Leu Thr Pro Met Pro Ala
755 760 765
Val Arg Thr Phe Ala Leu Thr Ser Gly Leu Ala Val Ile Leu Asp Phe
770 775 780
Leu Leu Gln Met Ser Ala Phe Val Ala Leu Leu Ser Leu Asp Ser Lys
785 790 795 800
Arg Gln Glu Ala Ser Arg Leu Asp Val Cys Cys Cys Val Lys Pro Gln
805 810 815
Glu Leu Pro Pro Pro Gly Gln Gly Glu Gly Leu Leu Leu Gly Phe Phe
820 825 830
Gln Lys Ala Tyr Ala Pro Phe Leu Leu His Trp Ile Thr Arg Gly Val
835 840 845
Val Leu Leu Leu Phe Leu Ala Leu Phe Gly Val Ser Leu Tyr Ser Met
850 855 860
Cys His Ile Ser Val Gly Leu Asp Gln Glu Leu Ala Leu Pro Lys Asp
865 870 875 880
Ser Tyr Leu Leu Asp Tyr Phe Leu Phe Leu Asn Arg Tyr Phe Glu Val
885 890 895
Gly Ala Pro Val Tyr Phe Val Thr Thr Leu Gly Tyr Asn Phe Ser Ser
900 905 910
Glu Ala Gly Met Asn Ala Ile Cys Ser Ser Ala Gly Cys Asn Asn Phe

915 920 925
Ser Phe Thr Gln Lys Ile Gln Tyr Ala Thr Glu Phe Pro Glu Gln Ser
930 935 940
Tyr Leu Ala Ile Pro Ala Ser Ser Trp Val Asp Asp Phe Ile Asp Trp
945 950 955 960
Leu Thr Pro Ser Ser Cys Cys Arg Leu Tyr Ile Ser Gly Pro Asn Lys
965 970 975
Asp Lys Phe Cys Pro Ser Thr Val Asn Ser Leu Asn Cys Leu Lys Asn
980 985 990
Cys Met Ser Ile Thr Met Gly Ser Val Arg Pro Ser Val Glu Gln Phe
995 1000 1005
His Lys Tyr Leu Pro Trp Phe Leu Asn Asp Arg Pro Asn Ile Lys Cys
1010 1015 1020
Pro Lys Gly Gly Leu Ala Ala Tyr Ser Thr Ser Val Asn Leu Thr Ser
1025 1030 1035 1040
Asp Gly Gln Val Leu Ala Ser Arg Phe Met Ala Tyr His Lys Pro Leu
1045 1050 1055
Lys Asn Ser Gln Asp Tyr Thr Glu Ala Leu Arg Ala Ala Arg Glu Leu
1060 1065 1070
Ala Ala Asn Ile Thr Ala Asp Leu Arg Lys Val Pro Gly Thr Asp Pro
1075 1080 1085
Ala Phe Glu Val Phe Pro Tyr Thr Ile Thr Asn Val Phe Tyr Glu Gln
1090 1095 1100

Tyr Leu Thr Ile Leu Pro Glu Gly Leu Phe Met Leu Ser Leu Cys Leu
1105 1110 1115 1120

Val Pro Thr Phe Ala Val Ser Cys Leu Leu Leu Gly Leu Asp Leu Arg
1125 1130 1135

Ser Gly Leu Leu Asn Leu Leu Ser Ile Val Met Ile Leu Val Asp Thr
1140 1145 1150

Val Gly Phe Met Ala Leu Trp Gly Ile Ser Tyr Asn Ala Val Ser Leu
1155 1160 1165

Ile Asn Leu Val Ser Ala Val Gly Met Ser Val Glu Phe Val Ser His
1170 1175 1180

Ile Thr Arg Ser Phe Ala Ile Ser Thr Lys Pro Thr Trp Leu Glu Arg
1185 1190 1195 1200

Ala Lys Glu Ala Thr Ile Ser Met Gly Ser Ala Val Phe Ala Gly Val
1205 1210 1215

Ala Met Thr Asn Leu Pro Gly Ile Leu Val Leu Gly Leu Ala Lys Ala
1220 1225 1230

Gln Leu Ile Gln Ile Phe Phe Phe Arg Leu Asn Leu Ile Thr Leu
1235 1240 1245

Leu Gly Leu Leu His Gly Leu Val Phe Leu Pro Val Ile Leu Ser Tyr
1250 1255 1260

Val Gly Pro Asp Val Asn Pro Ala Leu Ala Leu Glu Gln Lys Arg Ala
1265 1270 1275 1280

Glu Glu Ala Val Ala Ala Val Met Val Ala Ser Cys Pro Asn His Pro

1285

1290

1295

Ser Arg Val Ser Thr Ala Asp Asn Ile Tyr Val Asn His Ser Phe Glu

1300

1305

1310

Gly Ser Ile Lys Gly Ala Gly Ala Ile Ser Asn Phe Leu Pro Asn Asn

1315

1320

1325

Gly Arg Gln Phe

1330

<210> 10

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 10

aaggcggcca ccccattcag gat

23

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 11

tatgaagtgc gcaggacgtt

20

<210> 12

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 12

tgcgggcagg ggaatctta

19

<210> 13

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 13

tttcttcgtgc atcatcgccc catttg

26

<210> 14

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 14

c c a a g g i g c a a g t g i c c a g a g 22
<210> 15
<211> 3264
<212> DNA
<213> Human
<400> 15
a t g g a c c a c c a g g c t t c c g g g a g t t c t g c t g g a a g c c c c a c g a g g t g c t c a a g g a t c t g 60
c c g c t g g g c t c c t a c t c c t a c t g c t c g c c c c a g c t c g c t c a t g a c c t a c t t t t c c c 120
a c c g a g a g g g g c g g c a a g a t c t a c t a t g a c g g c a t g g g c c a g g a c t t g g c g g a c a t c c g g 180
g g c t c c c t g g a g c t t g c c a t g a c t c a c c c t g a g t t c t a c t g g t a t g i g g a t g a g g g c c t c 240
t c t g c a g a c a t c t g a a g a g c t c c c t c c t g c g c a g t g a g a t c c t g t t t g g a g c a c c c t g 300
c c c a a c t a c t c a g t a g a t g a c c g c t g g a g g a a c a a c g g c t a a g t t c a g a g c t c 360
g t g g t c a c c t a c g t g g c c a t g c t g g c c a a g a g c t c a c c c t g a g t t c t c t a t g g g g a c a g 420
g g g g g g a c a g a c t t g t t g a c t a g a g t g c g c a g g a c g t t c a a c a a t g a c a t g c t c c t g 480
g c c t t c a t c a g c a g c t g c a t t g c t g c c t g g t c t a c a t c c t a c c t c t g c t c a g t g 540
t t c c t g t c t t t g g g a t t g c c a g c a t t g g t c a g c t g c t g g t g g c c t c t t c c t g 600
t a c c a c t g g t g g t a t c a g t a c t t g g c a t c c t g a a t g g g g t g g c c g c c t t c g t g 660
a t c g t g g g c a t t g g t g g a c g a t g c t t t g i g t t c a t c a g t a c a c c t a c c g c c a c c 720
c a c c t g g a a g a c c c a c a g c t g c g c a t g a t c a c a c c g t c c a a a c t i g c a g g c a c c 780
t t c t t c a c c t c c c t g a c c a g c a c g c c a g c a t t g c t c a c g t t t c t c c a g a t c c c a 840
g c c g i c c a c g a c t t i g g c c t g t c a t g t c t c t a c t c g i g t c c t g t i g c i g g c c g i g 900
c t i g t c a c c a t g c c t g c a g c t c t g g g c c t c t g g a g c c t a c c t g g c a c c a c t g g a g a g c 960
t c t g c c a g a c c a g c t g c c a c c a a t t g c a g g a a g a a c t c c c t g c a c t t c c c c g g a 1020

gacgtgttttgcgcgtccga gcaggttgaa ggcagccctg cccagggccc cataccctac 1080
ctggatgtatgc acatccccctt gctggagggtc gaggaagagc cagtgtcaact ggagctggta 1140
gacgtgtccc tgggtgttgtt gtcccccgag gggtgtcagc cagccctccaa cacggcagc 1200
cgcggccatc tcattgtca gctgcaggag ctgtgtcacc actgggtctt gtggtcagcc 1260
gtcaagagcc gctgggtgtat tgtgggtctt ttgtgttcca tcctcatctt gtccctggta 1320
ttcgccagcc ggctccggcc cgccagccgg gccccgtac tcttccggcc tgataccaac 1380
atccagggtgc tgctggacct caagtacaac ctgagcgcgg agggcatctc ctgcatcacc 1440
tgtttaggtc tgggtccagga gaagccccac agcctgcaga acaacatccg gacgtccctg 1500
gagaagaaga ggcgagggtc aggggtcccc tgggttagcc ggcctgaggc caccctgtcag 1560
gatttccag gcaccgtgtt catctctaaa gtgaagagtc aaggccaccc cgctgtctac 1620
aggctctccc tcaatgccag cctgcctgtt cttggcagg ctgtgtcgtcc tgggtatgga 1680
gaggtgcctt cttccaggt gtatagagcg ctttttgttta acttcaccaa gaagctgacc 1740
gtttgtatgtt ctacagttagg gctgtccag gggcgagcc cttccgttta gtggatgttg 1800
acgacccttgg cctgtgtatgc caagcggggc tggaaagtttgc acttcagctt ctacgtggcc 1860
accaaggagc agcagcacac ccggaaagctg tacttcgtcc agtcccacaa gcccccttc 1920
cacggcgcgc taigcaiggc acccccttggc tgcctgttta gctccagccc cgatgggcct 1980
accaaaggctt tcttcttcgtt gccttagttagaa aaagtgccca aggccgtctt ctcaagccacc 2040
ttcggcttca accccctgcgtt gaacacgggc tgcgggaagc cggcgggtgcg gccacttagt 2100
gataccgggg ccatggtctt tgggtcttc ggcattatttgc gctcaaccc cactcggcag 2160
gtggacaacc acgtcattgg agacccgggtt agtgttgtt acgacagcag ctttgaccctc 2220
ttcaaggaaaa ttgggcacctt gtgtcaccc tcgtcaaggccaa tgcgtccaa ctccgagctg 2280
gtgtcaaggccgg gttggggccca gtgcctgttcc tcaggctaca gcatctccctc ctccctgtcag 2340
atgttgcacc ctgagtgccaa ggagctgccc gagcccaacc tgctcccggtt gcagctgtcc 2400

cacggggcag tggcgctcag ggagggccgc gtgcagigga tciccaitggc tttcgagtgc 2460
accacgtaca agggcaaatac ctcccttcag acctactcgg actacacitgcg ctgggagagc 2520
ticctccagc agcagctgca ggccttgcgg gagggctcag tccctgcgcgg gggcttccag 2580
acctgcgagc actggaagca gatattcatg gaaatcgtag gggtgcaagag cgccctgtgc 2640
ggcctgggtgc tatcccgtct catctgcgtg gccgcgggtgg ccgttgtcac caccacatc 2700
ctgctccgtc tgccctgtct cctcagcata ttgggcatcg tgcgcgttgt ggtgaccatc 2760
atgtacttggaa gccccctggta gatggggct gtggaaagcca tcicccgttc catccctgtt 2820
ggctccctccg tggattactg cgtccacactg gtcgagggtt acctgcgtggc tggagagaac 2880
ctgccccccc accaggccga ggacgcccga acgcagcgcc agtggcgtac gctggaggcc 2940
gtgcggcacg tggcggtggc catcgcttcc agtgccttca ccacggtcat cgccacagtg 3000
ccccctcttc tctgcattcat cggccatctt gccaagtgc gcaagattgt ggcactcaac 3060
acgggcgtgtt ccaatcttca cacgctgacc gtcagcaccg ccctgcgtgg catcatggcg 3120
cccaagctttt tcaactcggttcc cggacttcc ttccatcaagg ccctgggtgc cgtgcgttgt 3180
gcagggggccccc tggggctggg tgcctgcctc gtcgttgttc agagcggctta taagattttttt 3240
ctgccccgcag gggcctccct atag 3264

<210> 16

<211> 200

<212> PRT

<213> Human

<400> 16

Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp Leu Phe Asp Tyr Glu Val

5

10

15

Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu Ala Phe Ile Ser Ser Ser

20/59

20 25 30

Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr Ser Cys Ser Val Phe Leu

 35 40 45

Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu Ser Cys Leu Val Ala Leu

 50 55 60

Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln Tyr Leu Gly Ile Leu Asn

 65 70 75 80

Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile Gly Val Asp Asp Val Phe

 85 90 95

Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr His Leu Glu Asp Pro Gln

 100 105 110

Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala Gly Lys Ala Thr Phe Phe

 115 120 125

Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala Ala Asn Val Phe Ser Gln

 130 135 140

Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe Met Ser Leu Ile Val Ser

 145 150 155 160

Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met Pro Ala Ala Leu Gly Leu

 165 170 175

Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser Ser Cys Gln Thr Ser Cys

 180 185 190

His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr

 195 200

<210> 17

<211> 1087

<212> PRT

<213> Human

<400> 17

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5

10

15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20

25

30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35

40

45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50

55

60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65

70

75

80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85

90

95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100

105

110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu

115

120

125

Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp

130

135

140

Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu
145 150 155 160
Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr
165 170 175
Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu
180 185 190
Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln
195 200 205
Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile
210 215 220
Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr
225 230 235 240
His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala
245 250 255
Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala
260 265 270
Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe
275 280 285
Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met
290 295 300
Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
305 310 315 320
Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu

325 330 335

His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Ala Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser

340 345 350

Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu

355 360 365

Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu

370 375 380

Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser

385 390 395 400

Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val

405 410 415

Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Gly Leu Phe Val

420 425 430

Ser Ile Leu Ile Leu Ser Leu Val Phe Ala Ser Arg Leu Arg Pro Ala

435 440 445

Ser Arg Ala Pro Leu Leu Phe Arg Pro Asp Thr Asn Ile Gln Val Leu

450 455 460

Leu Asp Leu Lys Tyr Asn Leu Ser Ala Glu Gly Ile Ser Cys Ile Thr

465 470 475 480

Cys Ser Gly Leu Phe Gln Glu Lys Pro His Ser Leu Gln Asn Asn Ile

485 490 495

Arg Thr Ser Leu Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ser Gly Val Pro Trp Ala

500 505 510

Ser Arg Pro Glu Ala Thr Leu Gln Asp Phe Pro Gly Thr Val Tyr Ile
515 520 525
Ser Lys Val Lys Ser Gln Gly His Pro Ala Val Tyr Arg Leu Ser Leu
530 535 540
Asn Ala Ser Leu Pro Ala Pro Trp Gln Ala Val Ser Pro Gly Asp Gly
545 550 555 560
Glu Val Pro Ser Phe Gln Val Tyr Arg Ala Pro Phe Gly Asn Phe Thr
565 570 575
Lys Lys Leu Thr Ala Cys Met Ser Thr Val Gly Leu Leu Gln Ala Ala
580 585 590
Ser Pro Ser Arg Lys Trp Met Leu Thr Thr Leu Ala Cys Asp Ala Lys
595 600 605
Arg Gly Trp Lys Phe Asp Phe Ser Phe Tyr Val Ala Thr Lys Glu Gln
610 615 620
Gln His Thr Arg Lys Leu Tyr Phe Ala Gln Ser His Lys Pro Pro Phe
625 630 635 640
His Gly Arg Val Cys Met Ala Pro Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ser Ser
645 650 655
Pro Asp Gly Pro Thr Lys Gly Phe Phe Val Pro Ser Glu Lys Val
660 665 670
Pro Lys Ala Arg Leu Ser Ala Thr Phe Gly Phe Asn Pro Cys Val Asn
675 680 685
Thr Gly Cys Gly Lys Pro Ala Val Arg Pro Leu Val Asp Thr Gly Ala

690 695 700
Met Val Phe Val Val Phe Gly Ile Ile Gly Val Asn Arg Thr Arg Gln
705 710 715 720
Val Asp Asn His Val Ile Gly Asp Pro Gly Ser Val Val Tyr Asp Ser
725 730 735
Ser Phe Asp Leu Phe Lys Glu Ile Gly His Leu Cys His Leu Cys Lys
740 745 750
Ala Ile Ala Ala Asn Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Gly Ala Gln Cys
755 760 765
Leu Pro Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Phe Leu Gln Met Leu His Pro
770 775 780
Glu Cys Lys Glu Leu Pro Glu Pro Asn Leu Leu Pro Gly Gln Leu Ser
785 790 795 800
His Gly Ala Val Gly Val Arg Glu Gly Arg Val Gln Trp Ile Ser Met
805 810 815
Ala Phe Glu Ser Thr Thr Tyr Lys Gly Lys Ser Ser Phe Gln Thr Tyr
820 825 830
Ser Asp Tyr Leu Arg Trp Glu Ser Phe Leu Gln Gln Leu Gln Ala
835 840 845
Leu Pro Glu Gly Ser Val Leu Arg Arg Gly Phe Gln Thr Cys Glu His
850 855 860
Trp Lys Gln Ile Phe Met Glu Ile Val Gly Val Gln Ser Ala Leu Cys
865 870 875 880

Gly Leu Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Val Ala Ala Val Ala Val Phe
885 890 895
Thr Thr His Ile Leu Leu Leu Pro Val Leu Leu Ser Ile Leu Gly
900 905 910
Ile Val Cys Leu Val Val Thr Ile Met Tyr Trp Ser Gly Trp Glu Met
915 920 925
Gly Ala Val Glu Ala Ile Ser Leu Ser Ile Leu Val Gly Ser Ser Val
930 935 940
Asp Tyr Cys Val His Leu Val Glu Gly Tyr Leu Leu Ala Gly Glu Asn
945 950 955 960
Leu Pro Pro His Gln Ala Glu Asp Ala Arg Thr Gln Arg Gln Trp Arg
965 970 975
Thr Leu Glu Ala Val Arg His Val Gly Val Ala Ile Val Ser Ser Ala
980 985 990
Leu Thr Thr Val Ile Ala Thr Val Pro Leu Phe Phe Cys Ile Ile Ala
995 1000 1005
Pro Phe Ala Lys Phe Gly Lys Ile Val Ala Leu Asn Thr Gly Val Ser
1010 1015 1020
Ile Leu Tyr Thr Leu Thr Val Ser Thr Ala Leu Leu Gly Ile Met Ala
1025 1030 1035 1040
Pro Ser Ser Phe Thr Arg Thr Arg Thr Ser Phe Leu Lys Ala Leu Gly
1045 1050 1055
Ala Val Leu Leu Ala Gly Ala Leu Gly Leu Gly Ala Cys Leu Val Leu

1060

1065

1070

Leu Gln Ser Gly Tyr Lys Ile Pro Leu Pro Ala Gly Ala Ser Leu

1075

1080

1085

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 18

ctggtgccca tactgggtgg actc

24

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 19

gcctccctgcc tcttgtgttc ca

22

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 20

ccatggcctt ctttccttac ttg

23

<210> 21

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 21

gggccttag gaagaagcag at

22

<210> 22

<211> 240

<212> DNA

<213> Human

<400> 22

ccatggcctt ctttccttac ttgggtatcc gtcctccctt ggtcatccctt caagtggttc 60

ctttcccttgt gctgtccgtt ggggttgata acatcttcat ctttgttctt gagtaccaga 120

ggctgtccccgg gaggcctggg gagccacgag aggtccacat tgggcgagcc cttaggcagg 180

tggctcccttgt catgttgttgc tgcagccctt ctgaggccat ctgccttctt cttagggccc 240

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 23

ttgctgccct ggtctacatc ctca

24

<210> 24

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 24

cagagctgca ggcattggta caa

23

<210> 25

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 25

gggtggccgc cttcgttat

19

<210> 26

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 26

gcacggccag ccagcaaca 19

<210> 27

<211> 258

<212> DNA

<213> Human

<400> 27

gggtggccgc ctgcgtgatc gtgggcattg gtgtggacga tgccttttgtt ttcataaca 60

cctaccgcca ggccacccac ctggaaagacc cacagctgcg catgatccac accgtccaaa 120

ctgcaggcaa ggccacccatc ttcacctccc tgaccacagc cgccgcctac gcagctaacg 180

tcttctccca gatcccagcc gtccacgact ttggcctgtt catgtctctc atcgatgtcct 240

gttgctggct gggcgatgc 258

<210> 28

<211> 582

<212> DNA

<213> Human

<400> 28

ttcaatggctg agcgctctctt ggaagacgag atcaatcgca ccacagcttga agaccgtcccc 60

atctttgcac ccagctacat tgtcatatcc ctgtacatct ctctggccctt gggcagctat 120
tccagctgga gccgagtgat ggtggactcc aaggccacgc tgggcctcgg cggggtgtggcc 180
gtggtccctgg gagcagtcat ggctgccatg ggcttcttctt cctacttggg tatccgttcc 240
tcccctggca tccigcaagt ggitcccttc ctggggcgtt ccgtggggcc tgataaacatc 300
ttcatcttgc ttctcgagta ccagaggctg ccccgaggc ctggggagcc acgagaggcc 360
cacattgggc gagccctagg cagggtggct cccagcatgc tgitgtgcag cctctctigag 420
gccatctgtt tcttcctagg ggccctgacc cccatgccag ctgtgcggac ctgtgcctgg 480
acccctggcc ttgcagtgtat ctttgacttc ctccgtcaga tgcagccctt tgcggccctgg 540
ctctccctgg acagcaagag gcaggaggcc tcccggttgg ac 582

<210> 29

<211> 600

<212> DNA

<213> Human

<400> 29

aaagtccagg ttctctatgg ggggacagac ctgtttgact atgaagtgcg caggacgttc 60
aacaatgaca igctccctggc ctcatcagc agcagctgca ttgcgtgcctt ggctctacatc 120
ctcacccctt gtcagtttgc ctgtcccttc ttggatgg ccagcattgg tctcagctgc 180
ctgggtggccc tcttcctgtt ccacgtggcc ttggatcc agtacttggg catccgtaat 240
gggggtggcccg ctttcgtgtat cgtggccatt ggtgtggacg atgtctttgtt gtccatcaac 300
acccatccggcc aggccaccca cctggaaagac ccacagctgc gcatgatcca caccgtccaa 360
actgcaggca aggccacccctt ctccatccctt ctgaccacag ccggccgcata cgcaagctaacc 420
gtcttctccc agatcccagc cgtccacgac ttggcctgt tcatgtctt catcgtgtcc 480
tggttgtggc tggccgtgct tgcaccatg cctgcagctc tggcccttc gagctctac 540

ctggcaccac tggagagctc ctgccagacc agctgccacc agaatggcag ccggaagacc 600

<210> 30

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 30

cggagcgcaa cattttcac

19

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 31

acaacactac ccgggtctcc aatg

24

<210> 32

<211> 1371

<212> DNA

<213> Human

<400> 32

atggaccacc caggcttccg ggagttctgc tggaaagcccc acgaggtgtt caaggatctg 60

ccgctggcgtt cctactccta ctgcgtcccc cccagtcgc tcatgaccta ctttttccc 120
accgagaggg gcgccaagat ctactatgac ggcattggcc aggacctggc ggacatccgg 180
ggctccctgg agctggccat gactcaccct gagtttact ggtatgtgga tgagggcctc 240
tctgcagaca atctgaagag ctccctccctg cgcaigaga tcctgtttgg agcacccctg 300
cccaactact actcagtaga tgaccgctgg gaggaacaac gggctaagtt tcagagcttc 360
gtggtcaccc acgtggccat gctggccaag cagtctacca gcaaagtcca gtttcttat 420
ggggggacag acctgtttga ctatgaagtg cgcaaggacgt tcaacaatga catgccttg 480
gccttcatca gcagcagctg cattgctgcc ctggcttaca tcctcacccctc ctgtctcagtg 540
ttccctgtccct tcttggat tgccagcatt ggtctcagct gcctgggtggc cctttccctg 600
taccacgtgg tcittggat ccagtaacttg ggcattcciga atggggtgcc cgccttcg 660
atcggtggca ttggtgigga cgatgtctt gtgttcatca acacctaccg ccaggccacc 720
cacctggaaag acccacagct ggcattgtac cacaccgtcc aaactgcagg caaggccacc 780
ttcttcaccc ccctgaccac agccgccc tacgcagcta acgtttctc ccagatccca 840
ggcgccacg actttggccct gttcatgtct ctcatcgigt ccgttgtctg gctggccgtg 900
cttgtcacca tgccatgcagc tctggccctc tggagccctt acciggcacc actggagagc 960
tcctggccaga ccagctgcctt ccagaattgc agccggaaga cctccctgca citccccgg 1020
gacgtgtttg ccactcccgta gcagggttgga ggcagccctg cccaggcccc cataccctac 1080
ctggatgtatg acatccccctt gctggaggc gaggaagagc cagtttactt ggagctggga 1140
gacgtgtcccgcc tgggtctgt gtcccccgag ggtctgcagc cagcctccaa cacggccagc 1200
cgccggccatc tcatcgatca gctgcaggag ctgcgtccacc actgggtccctt ggggtcagcc 1260
gtcaagagcc gctgggtgat tggccggc tccggcccgcc cagccgggccc ccgttactt 1320
tccggccatc taccatc caggtgtgc tggacccaa gtacaacccctg a 1371

<211> 1338

<212> DNA

<213> Human

<400> 33

atggaccacc caggcttccg ggagttctgc tggaagcccc acgagggtgct caaggatctg 60
ccgctgggct cctactccta ctgctcgccc cccagctcgc tcatgaccctt ctttttccc 120
accgagaggg gcggcaagat ctactatgac ggcattggcc aggacctggc ggacatccgg 180
ggcctccctgg agctggccat gactcacccct gagttctact ggttatgtgga tgagggcctc 240
tctgcagaca atctgaagag ctccctcctg cgcaigtgaga tcctgtttgg agcacccctg 300
cccaactact actcagiaga tgaccgctgg gaggaacaac gggctaagtt tcagagcttc 360
giggtcacct acgtggccat gctggccaag cagtctacca gcaaagtcca ggttcttat 420
ggggggacag acctgtttga ctatgaagtg cgcaaggacgt tcaacaatga catgctcctg 480
gccttcataca gcagcagctg cattgctgcc ctggcttaca tcctcacccctc ctgtctagtg 540
ttcctgtcct tctttggat tgccagcatt ggtctcagct gcctggggc cccttccttg 600
taccacgtgg tctttggat ccagtacttg ggcattcctga atgggtggc cgccttcgtg 660
atcgtggca ttgggtggta cgatgtctt gtgttataca acacctaccg ccaggccacc 720
caccttggaaag acccacagct gcgcatgatc cacaccgtcc aaactgcagg caaggccacc 780
ttcttcacccctt cccatgaccac agccgcccgc tacgcagcta acgtcttcctc ccagatccca 840
gccgtccacg actttggccctt gtcatgtct ctcatgtgt ctgtttgtg gctggccgtg 900
cttgtcacca tgcctgcagc tctggccctc tggagccctt acctggcacc acgtggagac 960
tcctgcccaga ccagctggca ccagaatitgc agccggaaga ccctccctgca cttccccgg 1020
gacgtgttttg ccactccctg gaagtttggaa ggcagccctg cccagggccc cataccctac 1080
ctggatgtatg acatccctt gctggagggtc gaggaagagc cagtgtcact ggagctggga 1140

gacgtgtccc tggtgtctgt gtcccccag ggtctgcagc cagcctccaa cacggcagc 1200
cgcgccatc tcatacgta gctgcaggag ctgcgtcacc actgggtcct gtggtcagcc 1260
gtcaagagcc gctgggtgat tgtggtccgt ttacactca gttccatattc tgtaatttag 1320
gatgagaacg gtggctag . 1338

<210> 34

<211> 456

<212> PRT

<213> Human

<400> 34

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5 10 15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20 25 30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35 40 45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50 55 60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65 70 75 80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85 90 95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100 105 110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu
115 120 125
Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp
130 135 140
Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu
145 150 155 160
Ala Phe Ile Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr
165 170 175
Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu
180 185 190
Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln
195 200 205
Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile
210 215 220
Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr
225 230 235 240
His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala
245 250 255
Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala
260 265 270
Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe
275 280 285
Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met

290 295 300
Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
305 310 315 320
Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu
325 330 335
His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Thr Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser
340 345 350
Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu
355 360 365
Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu
370 375 380
Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser
385 390 395 400
Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val
405 410 415
Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Ala Gly Ser Ala
420 425 430
Pro Pro Ala Gly Pro Arg Tyr Ser Ser Gly Leu Ile Pro Thr Ser Arg
435 440 445
Cys Cys Trp Thr Ser Ser Thr Thr
450 455
<210> 35
<211> 445

<212> PRT

<213> Human

<400> 35

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5 10 15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20 25 30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35 40 45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50 55 60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65 70 75 80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85 90 95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100 105 110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu

115 120 125

Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp

130 135 140

Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu

145 150 155 160

Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr
165 170 175
Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu
180 185 190
Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln
195 200 205
Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile
210 215 220
Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr
225 230 235 240
His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala
245 250 255
Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala
260 265 270
Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe
275 280 285
Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met
290 295 300
Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
305 310 315 320
Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu
325 330 335
His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Thr Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser

340

345

350

Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu

355

360

365

Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu

370

375

380

Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser

385

390

395

400

Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val

405

410

415

Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Val Arg Leu Ala

420

425

430

Leu Ser Ser Tyr Ser Val Ile Glu Asp Glu Asn Gly Gly

435

440

445

<210> 36

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 36

tactcttccg gcctgataacc aacat

25

<210> 37

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 37

ccaaagggtgc aagtggccag ag

22

<210> 38

<211> 27

<212> PRT

<213> Human

<400> 38

Asp Thr Val Ala Ile Leu Ser Pro Arg Leu Glu Tyr Ser Gly Thr Ile

5

10

15

Ser Ala His Cys Asn Leu Tyr Leu Leu Asp Ser

20

25

<210> 39

<211> 81

<212> DNA

<213> Human

<400> 39

acacagttgc cattctgtca cccaggctgg agtacagttgg cacaatctcg gctcactgca

60

acctctaccc

cctggatcca

g

81

<210> 40

<211> 1392

<212> PRT

<213> Human

<400> 40

Met	Asp	Thr	Glu	Asp	Asp	Pro	Leu	Leu	Gln	Asp	Val	Trp	Leu	Glu	Glu
5										10					15
Glu	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Glu	Thr	Phe	Leu	Gly	Ala	Gln
						20			25					30	
Lys	Pro	Gly	Pro	Gln	Pro	Gly	Ala	Gly	Gly	Gln	Cys	Cys	Trp	Arg	His
						35			40					45	
Trp	Pro	Leu	Ala	Ser	Arg	Pro	Pro	Ala	Ser	Gly	Phe	Trp	Ser	Thr	Leu
						50			55					60	
Gly	Trp	Ala	Phe	Thr	Asn	Pro	Cys	Cys	Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Phe	Leu
						65			70					80	
Gly	Cys	Ser	Ile	Pro	Met	Ala	Leu	Ser	Ala	Phe	Met	Phe	Leu	Tyr	Tyr
						85			90					95	
Pro	Pro	Leu	Asp	Ile	Asp	Ile	Ser	Tyr	Asn	Ala	Phe	Glu	Ile	Arg	Asn
						100			105					110	
His	Glu	Ala	Ser	Gln	Arg	Phe	Asp	Ala	Leu	Thr	Leu	Ala	Leu	Lys	Ser
						115			120					125	
Gln	Phe	Gly	Ser	Trp	Gly	Arg	Asn	Arg	Arg	Asp	Leu	Ala	Asp	Phe	Thr
						130			135					140	
Ser	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Leu	Ile	Ser	Glu	Gln	Leu	Gln	Gln	Leu	His
						145			150					160	
Leu	Gly	Asn	Arg	Ser	Arg	Gln	Ala	Ser	Arg	Ala	Pro	Arg	Val	Ile	Pro
						165			170					175	
Ala	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Pro	Gly	Pro	Tyr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Ala
						180			185					190	
Gln	Lys	Pro	Thr	Ala	Asn	Arg	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Arg	Glu	Thr	Pro
						195			200					205	

Pro Leu Glu Asp Leu Ala Ala Asn Gln Ser Glu Asp Pro Arg Asn Gln
210 215 220
Arg Leu Ser Lys Asn Gly Arg Tyr Gln Pro Ser Ile Pro Pro His Ala
225 230 235 240
Ala Val Ala Ala Asn Gln Ser Arg Ala Arg Arg Gly Ala Ser Arg Trp
245 250 255
Asp Tyr Ser Arg Ala Tyr Val Ser Ala Asn Thr Gln Thr His Ala His
260 265 270
Trp Arg Ile Glu Leu Ile Phe Leu Ala Arg Gly Asp Ala Glu Arg Asn
275 280 285
Ile Phe Thr Ser Glu Arg Leu Val Thr Ile His Glu Ile Glu Arg Lys
290 295 300
Ile Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu
305 310 315 320
Val Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro
325 330 335
Ser Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile
340 345 350
Tyr Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu
355 360 365
Glu Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly
370 375 380
Leu Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu
385 390 395 400
Phe Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu
405 410 415
Glu Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met
420 425 430
Leu Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr
435 440 445
Asp Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu
450 455 460
Leu Ala Phe Ile Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu
465 470 475 480
Thr Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly

	485	490	495
Leu Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile			
500	505	510	
Gln Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly			
515	520	525	
Ile Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala			
530	535	540	
Thr His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr			
545	550	555	560
Ala Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr			
565	570	575	
Ala Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu			
580	585	590	
Phe Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr			
595	600	605	
Met Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu			
610	615	620	
Ser Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser			
625	630	635	640
Leu His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Thr Pro Glu Gln Val Gly Gly			
645	650	655	
Ser Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu			
660	665	670	
Leu Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser			
675	680	685	
Leu Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly			
690	695	700	
Ser Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp			
705	710	715	720
Val Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Gly Leu Phe			
725	730	735	
Val Ser Ile Leu Ile Leu Ser Leu Val Phe Ala Ser Arg Leu Arg Pro			
740	745	750	
Ala Ser Arg Ala Pro Leu Leu Phe Arg Pro Asp Thr Asn Ile Gln Val			
755	760	765	

Leu Leu Asp Leu Lys Tyr Asn Leu Ser Ala Glu Gly Ile Ser Cys Ile
770 775 780
Thr Cys Ser Gly Leu Phe Gln Glu Lys Pro His Ser Leu Gln Asn Asn
785 790 795 800
Ile Arg Thr Ser Leu Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ser Gly Val Pro Trp
805 810 815
Ala Ser Arg Pro Glu Ala Thr Leu Gln Asp Phe Pro Gly Thr Val Tyr
820 825 830
Ile Ser Lys Val Lys Ser Gln Gly His Pro Ala Val Tyr Arg Leu Ser
835 840 845
Leu Asn Ala Ser Leu Pro Ala Pro Trp Gln Ala Val Ser Pro Gly Asp
850 855 860
Gly Glu Val Pro Ser Phe Gln Val Tyr Arg Ala Pro Phe Gly Asn Phe
865 870 875 880
Thr Lys Lys Leu Thr Ala Cys Met Ser Thr Val Gly Leu Leu Gln Ala
885 890 895
Ala Ser Pro Ser Arg Lys Trp Met Leu Thr Thr Leu Ala Cys Asp Ala
900 905 910
Lys Arg Gly Trp Lys Phe Asp Phe Ser Phe Tyr Val Ala Thr Lys Glu
915 920 925
Gln Gln His Thr Arg Lys Leu Tyr Phe Ala Gln Ser His Lys Pro Pro
930 935 940
Phe His Gly Arg Val Cys Met Ala Pro Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ser
945 950 955 960
Ser Pro Asp Gly Pro Thr Lys Gly Phe Phe Phe Val Pro Ser Glu Lys
965 970 975
Val Pro Lys Ala Arg Leu Ser Ala Thr Phe Gly Phe Asn Pro Cys Val
980 985 990
Asn Thr Gly Cys Gly Lys Pro Ala Val Arg Pro Leu Val Asp Thr Gly
995 1000 1005
Ala Met Val Phe Val Val Phe Gly Ile Ile Gly Val Asn Arg Thr Arg
1010 1015 1020
Gln Val Asp Asn His Val Ile Gly Asp Pro Gly Ser Val Val Tyr Asp
1025 1030 1035 1040
Ser Ser Phe Asp Leu Phe Lys Glu Ile Gly His Leu Cys His Leu Cys

	1045	1050	1055
Lys Ala Ile Ala Ala Asn Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Gly Ala Gln			
1060	1065	1070	
Cys Leu Pro Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Phe Leu Gln Met Leu His			
1075	1080	1085	
Pro Glu Cys Lys Glu Leu Pro Glu Pro Asn Leu Leu Pro Gly Gln Leu			
1090	1095	1100	
Ser His Gly Ala Val Gly Val Arg Glu Gly Arg Val Gln Trp Ile Ser			
1105	1110	1115	1120
Met Ala Phe Glu Ser Thr Thr Tyr Lys Gly Lys Ser Ser Phe Gln Thr			
1125	1130	1135	
Tyr Ser Asp Tyr Leu Arg Trp Glu Ser Phe Leu Gln Gln Leu Gln			
1140	1145	1150	
Ala Leu Pro Glu Gly Ser Val Leu Arg Arg Gly Phe Gln Thr Cys Glu			
1155	1160	1165	
His Trp Lys Gln Ile Phe Met Glu Ile Val Gly Val Gln Ser Ala Leu			
1170	1175	1180	
Cys Gly Leu Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Val Ala Ala Val Ala Val			
1185	1190	1195	1200
Phe Thr Thr His Ile Leu Leu Leu Leu Pro Val Leu Leu Ser Ile Leu			
1205	1210	1215	
Gly Ile Val Cys Leu Val Val Thr Ile Met Tyr Trp Ser Gly Trp Glu			
1220	1225	1230	
Met Gly Ala Val Glu Ala Ile Ser Leu Ser Ile Leu Val Gly Ser Ser			
1235	1240	1245	
Val Asp Tyr Cys Val His Leu Val Glu Gly Tyr Leu Leu Ala Gly Glu			
1250	1255	1260	
Asn Leu Pro Pro His Gln Ala Glu Asp Ala Arg Thr Gln Arg Gln Trp			
1265	1270	1275	1280
Arg Thr Leu Glu Ala Val Arg His Val Gly Val Ala Ile Val Ser Ser			
1285	1290	1295	
Ala Leu Thr Thr Val Ile Ala Thr Val Pro Leu Phe Phe Cys Ile Ile			
1300	1305	1310	
Ala Pro Phe Ala Lys Phe Gly Lys Ile Val Ala Leu Asn Thr Gly Val			
1315	1320	1325	

Ser Ile Leu Tyr Thr Leu Thr Val Ser Thr Ala Leu Leu Gly Ile Met
1330 1335 1340
Ala Pro Ser Ser Phe Thr Arg Thr Arg Thr Ser Phe Leu Lys Ala Leu
1345 1350 1355 1360
Gly Ala Val Leu Leu Ala Gly Ala Leu Gly Leu Gly Ala Cys Leu Val
1365 1370 1375
Leu Leu Gln Ser Gly Tyr Lys Ile Pro Leu Pro Ala Gly Ala Ser Leu
1380 1385 1390

<210> 41

<211> 4179

<212> DNA

<213> Human

<400> 41

atggacacgg aggatgaccc ctigctgcag gatgtgtggc tagaggagga gcaggaggag 60
gaagaagcaa cgggtgaaac ctitttaggg gcccagaagc cagggcccca acctgtggca 120
gggggacagt gtigctggcg gcactggcc ctggcttccc gaccccccagc ttctggcttc 180
tggagtaccc tgggtgggc citcaccaat ccgtgttgtg ctgggttgtt gctcttcctg 240
ggctgcagca tccccatggc cctgtcagcc ttcatgttcc ttactaccc accgctggac 300
attgacatct cctacaacgc ctttgagatc cgcaaccacg aggccctaca gcgtttcgac 360
gctctcactc tggcgcttaa gtcccagttt ggatccctggg ggcggAACCG ggcgcatttg 420
ggcgacttca cciccgagac gcttcagcgc cttatctcag agcagctgca gcagctgcat 480
ctcggcaacc gctcgccgca agccctccga gcccccccg gcatccccgc ggcctcactc 540
ggtagcccgag gcccttaccg ggacacttcc ggggtcaaaa agcccacacg caatcgaggc 600
gggcgacttc ggcgtggagac cccgcccccg gaggatcigg cagccaaacca gagtgaagac 660
ccgcgaaacc agcggctgag caagaatggg cggtaaccgc ccagcatccc gccccacg 720
gcagtcgcgg ccaatcagag ccgtgcccgc cgaggcgcct cgcgtggga ctactcgc 780
gcctatgtga gtgccaacac tcagacgcac ggcactggc gcatcgact catcttcc 840
gcccgcggcg acgcggagcg caacatttc accagtggc gcctggtcac gatccatgag 900
atcgagcgc a agatcatgga ccacccaggc ttccggagt tctgtggaa gccccacgag 960
gtgtcaagg a cttggccgtt gggctctac tcctactgtc cggcccccag ctgcgtcatg 1020
acctaactttt ttcccacca gagggggcggc aagatctact atgacggcat gggccaggac 1080
ctggcggaca tccggggcgc cctggagctg gccaigactc accctggat tcaactggat 1140
gtggatgagg gcctcgtc agacaatctg aagagctccc tcctgcgcag tgagatcctg 1200

tttggagcac ccctgtccaa ctactactca gtatgtgacc gctgggaggga acaacgggct 1260
aagttcaga gcttcgttgtt cacctacgtg gccatgtgg ccaagcagtc taccagcaaa 1320
gtccagggttc tctatgggg gacagacctg tttgactatg aagtgcgcag gacgttcaac 1380
aatgacatgc tcctggcctt catcagcagc agctgtcatg ctgcctgtt ctacatcctc 1440
acccctgtct cagtgttctt gtcccttctt gggatttgcca gcattggtct cagctgctg 1500
gtggccctct tcctgttacca cgtggtcctt ggtatccagt acttggcat cctgaatggg 1560
gtggccgcct tcgigatgtt gggcatttgtt gtggacgtg tctttgtgtt catcaacacc 1620
taccggcagg ccacccaccc ggaagaccca cagctgcgcata tgatccacac cgtccaaact 1680
gcaggcaagg ccacccatctt caccccccgt accacagccg ccgcctacgc agctaacgtc 1740
ttctccaga tcccagccgtt ccacgactttt ggcctgttca tgtctctat cgtgtctgt 1800
tgctggctgg ccgtgttgtt caccatgcctt gcagctcgtt ggctctggag cctctacgt 1860
gcaccacgtt agagctcctg ccagaccaggc tgccaccaga attgcagccg gaagaccctcc 1920
ctgcaatcc cccggagacgtt gtttgcactt cccgagcagg tttggaggcag ccctgtccag 1980
ggccccatac cttaccttggta tgatgacate ccctgttgg agggtcgagga agagccagtg 2040
tcactggagc tgggagacgtt gtccctgggtt tcttgttccc ccgagggtct gcagccagcc 2100
tccaaacacgg gcagccgcgg ccatctcatc gtgcagctgc aggagctgtt gcaccactgg 2160
gtcctgttgtt cagccgtcaa gagccgttgg gtgttgtgg ggctgttctgtt ctccatcctc 2220
atcttgttccc tggtgttgc cagccggctc cgccccgcca gcccggccccc gctactcttc 2280
cgccctgtata ccaacatcca ggtgtgtgtt gaccctaagt acaacctgag cgccgaggc 2340
atctctgtca tcacctgttc aggtgtgtt caggagaagc cccacagctt gcagaacaac 2400
atccggacgtt ccctggagaa gaagaggcga ggctcagggg tccccctggc tagccggct 2460
gaggccaccc tgcaggatttt cccaggcacc gtgtacatct cttaagtgaa gagtcaaggc 2520
cacccctgtt tctacaggctt ctccctcaat gccagctgtc ctgtcttgc gcaggctgt 2580
tcgcctgggg atggagaggtt gccctccctt cagggttata gagcgcctttt tggiaacttc 2640
accaagaagc tgaccgttgc tatgttaca gttaggtgtc tccaggcggc gagccctcc 2700
cgcaagtggta tgctgacgac ctggccctgtt gatgccaaaggc ggggttgaa gtttacttc 2760
agcttctacg tggccaccaa ggagcagcagcacccggta agctgtactt cgccctgtcc 2820
cacaaggcccccc ctttccacgg ggcgtatgtc atggcaccctt ctggctgtt gcttagctcc 2880
agccccggatggccatccaa aggcttcttc ttctgtgttata gtgagaaaagt gcccaggcc 2940
cggttcttcgtt ccacccctgg cttcaaccccc tgcgtgaaca cgggttgccgg gaagccggcc 3000
gtgcggccac tagtggatac cggggccatg gtcttgggg tcttcggcat tattggcgtc 3060
aaccggcactc ggcaggtggaa caaccacgtc attggagacc cgggttagtgt tgcgtacgac 3120
agcagcttgc acctcttcaaa ggaaatggg caccgtgttc acctctgtcaaa ggccatcgca 3180
gccaactccg agctgggtgaa gcccgggtggg gcccagtgcc tgccttcagg ctacagcatc 3240
tcctccctcc tgcagatgtt gcaccctgttgc gcaaggagc tgccctggcc caaccctgtcc 3300

ccggggcagc tgtccccacgg ggcagtgggc gtcagggagg gccgcgtgca gtggatctcc 3360
atggctttcg agtgcaccac gtacaaggc aaatcctcttccatggacta ctcggactac 3420
ctgcgcctggg agagcttcct ccagcagcag ctgcaggcct tgcccggggg ctcatgcctg 3480
cgccgggct tccagacccgt cgagcactgg aagcagatata tcatggaaat cgttaggggtg 3540
cagagcgcggcc tgcgtggcct ggtgctatcc ctgcctcaatgcgtggccgc gggtggccgtg 3600
ttcacccatccc acatccatgtc cctgcgtcccc gtgcctctca gcatcttggg catgtgtgc 3660
ctgggttgta ccatcatgtt ctggagcggc tgggagatgg gggctgtggg agccatctcc 3720
ctgtccatccc tcgttgtgtc ctccgtggat tactgcgtcc acctgtgtcgaa gggctacctg 3780
ctggctggag agaacctgcc ccccccaccag gccgaggacg cccgaacgca ggcggcgtgg 3840
cgtaacgtgg aggccgtgcg gcacgtggc gtggccatcg tctccagtgc cctcaccacg 3900
gtcatgcggca cagtgcggcccttcttcgtc atcatgcggcc catttgccaa gttcgccaaag 3960
atgtggcac tcaacacggg cgtgtccatc ctctacacgc tgaccgtgcg caccggccctg 4020
ctgggcatca tggcggcccttgcgttcact cggaccggatcccttccttcaaggccctg 4080
ggtgcgtgc tgctggcagg ggccctgggg ctgggtgcctt gcctcggtgc cctgcagagc 4140
ggctataaga ttcccttgcgc cgcagggggcc tccctatag 4179

• <210> 42

〈211〉 5181

<212> DNA

213 Human

<400> 42

<400> 42
gcggctccga gaagcttccc cctgcgactt ccgcgaggag acgagtcgtgc gcagcgtgg 60
ggccgcgcgc ccccgaccct ctgcgcactc tctccgcgc cggcggctca gccttagcccc 120
gttcggccgg ccgagactat ggacacggag gatgaccct tgctgcaggta tggtgtggcta 180
gaggaggagc aggaggagga agaagcaacg ggtgaaacct ttttagggc ccagaagcca 240
gggccccaaac ctggggcagg gggacagtgt tgctggcggc actggccct ggcttcccga 300
cccccagctt cggcctctg gagtacccttg ggctggcct tcaccaatcc gtgtgtgtct 360
gggctggtgtc tttccctggg ctgcagcatc cccatggccc tgcagcctt catgttcctt 420
tactaccac cgctggacat tgacatctcc tacaacgcct ttgagatccg caaccacgag 480

gcctcacacgc gtttcgacgc tctcactctg ggcgttaagt cccagtttgg atccctggggg 540
cggaaccggc gcgatttggc cgacttcacc tccgagacgc tttagcgct tatctcagag 600
cagctgcaggc agctgcatact cggcaaccgc tcgcccgaag cctcccgagc ccccccgcgc 660
atccccgcgg cctcactcgg tagcccgaggc ccttaccggg acacttccgc ggctcaaaag 720
cccacagcca atcggagcgg gcgacttcgg cgtgagaccc cggccctggaa ggatctggca 780
gccaaccaga gtgaagaccc gcgaaaccag cggctgagca agaatggcg gtaccagccc 840
agcatccgc cccacgcggc agtcgcggcc aatcagagcc gtgcccgcgg aggccctcg 900
cgctgggact actcgcgccgc ctatgtgagi gccaacactc agacgcacgc gcacttggcgc 960
atcgagctca tcttcctggc ggcggcggac ggggagcgca acattttac cagtgagcgc 1020
ctggcacgca tccatgagat cgagcgcaag atcatggacc acccaggctt ccggagttc 1080
tgcttggaaac cccacggaggc gctcaaggat ctggccgtgg gcttctactc ctactgctcg 1140
ccccccagct cgctcatgac ctactttttt cccaccgaga ggggcccggcaa gatctactat 1200
gacggcatgg gccaggaccc ggcggacatc cggggctccc tggagctggc catgactcac 1260
cctgaggctt actggtaigt ggttggggc ctctctcgag acaatctgaa gagctccctc 1320
ctgcccggatg agatccctgtt tggagcaccc ctggccaaact actactcagt agatgaccgc 1380
tgggagggaaac aacgggctaa gtttcagagc ttctgtggta cctacgtggc catgtggcc 1440
aagcagtcata ccagcaaaatg ccaggcttc tatggggggc cagacctgtt tgactatgaa 1500
gtgcgcaggaa cgttcaacaa tgacatgttc ctggccctca tcagcagcag ctgcattgtt 1560
gccctggctt acatccctcac ctccctgtca gttttttttt gattggccaggc 1620
atggcttcata gctgccttgtt ggcccttttc ctgttccacgg tggctttttt gatccagttac 1680
ttgggcatcc tgaatgggtt ggccgccttc gtgtatcggtt gcatgggtt ggacgtatgtc 1740
tttgggttca tcaacacacta cggccaggcc acccacctgg aagacccaca gctgcgcata 1800
atccacacccg tccaaactgc aggcaaggcc accttcttca cctccctgac cacagccgcc 1860

gcctacgcag ctaacgtctt ctcccagatc ccagccgtcc acgactttgg cctgttcatg 1920
tctctcatcg tgccttgttg ctggctggcc gtgcctgtca ccatgcctgc agctctggc 1980
ctcggagcc tctaccctggc accactggag agctccctgcc agaccaggctg ccaccagaat 2040
tgcagccgga agacctcccc gcacticccc ggagacgtgt tggccactcc cgagcagggt 2100
ggaggcagcc ctgcccaggg ccccataccc tacctggatg atgacatccc ctgtggag 2160
gtcgaggaag agccagtgic actggagctg ggagacgtgt ccctgggtgc tggtcccc 2220
gagggtgc agccagccic caacacggc agccgcggcc atctcatgt gcagctgcag 2280
gagctgctgc accactgggt cctgtggta gccgtcaaga gccgtgggt gatigtgggg 2340
ctgttcgtct ccattctcat ctgtccctg gtgtcgcca gccggctccg ccccgccagc 2400
cgggccccgc tactcttccg gcctgataacc aacatccagg tgctgctgga cctcaagtac 2460
aacctgagcg ccgagggcat ctccctgcatc acctgtttag gtctgttcca ggagaagccc 2520
cacagccitgc agaacaacat ccggacgtcc ctggagaaga agaggcgagg ctcaagggtc 2580
ccctgggcia gccggccctga ggccaccctg caggatttcc caggcacccgt gtacatct 2640
aaagtgaaga gtcaaggcca ccccgctgtc tacaggctct ccctcaatgc cagccgtcct 2700
gtcccttggc aggctgtgtc gcctggggat ggagagggtc cctcccttcca ggtgtataga 2760
gcgccttttg gtaacttac caagaagctg accgctttag tgtctacagt agggctgtc 2820
caggcggcga gcccctcccg caagtggatg ctgacgaccc tggcctgtga tgccaaagg 2880
ggctggaaat ttgactttag ctcttacgtg gccaccaagg agcagcagca cacccggaaat 2940
ctgtacttgc cccagttccca caagcccccc ttccacgggc gcgtatgtat ggcacccct 3000
ggctggctgc tttagctccag ccccgatggg cctaccaaag gcttcttctt cgtgcctatgt 3060
gagaaagtgcc ccaaggccccg tctctcagcc accttgggt tcaacccctg cgtgaacacg 3120
ggctggcggga agccggcggt gcggccacta gtggataccg gggccatgtt ctttgtgtc 3180
ttcggcatta ttggcgtcaa ccgcactcgg caggaggaca accacgtcat tggagacccg 3240

ggtagtgttg tctacgacag cagcttgcac ctctcaagg aaatggca cctgtgtcac 3300
ctctgcaagg ccatcgacg caactccgag ctggtaaagc cgggtgggc ccagtccctg 3360
ccttcaggct acagcatctc ctccctccctg cagaatgttg accctgagtg caaggagctg 3420
cccgagccca acctgtcccc ggggcagctg tcccacgggg cagtggcgt cagggaggc 3480
cgctgtcagt ggatctccat ggctttcgag tcgaccacgt acaaggcaa atcctccctc 3540
cagacctact cggaactacct gcgcgtggag agcttccctc agcagcagct gcaggccctg 3600
cccgaggcgt cagtcctgctc cggggccctc cagacctgctc agcactggaa gcagatattc 3660
atggaaatcg taggggtgca gagcgccctg tgccgcctgg tgctatccct gctcatctgc 3720
gtggccgcgg tgccgtgtt caccaccac atccatgtcc tgcgtccctgt gctccctcagc 3780
atcttggca tcgtgtgcct ggtggtgacc atcatgtact ggagcggctg ggagatgggg 3840
gctgtggaag ccatctccct gtccatccctc gttggctctt ccgtggatata ctgcgtccac 3900
ctggtcgagg gctaccctgtt ggctggagag aaccctggccc cccaccaggc cgaggacgcc 3960
cgaacgcagc gccagtggtcg taccgtggag gccgtgtggc acgtggcgtt ggccatcgctc 4020
tccagtgccc taccacggt catgcccaca gtgcctctt tcttctgcattt catgccttcca 4080
tttgtccaaatgtt tcggcaagat tggcactc aacacggcg tgcataatctt ctacacgttg 4140
accgtcagca cggccctgtt gggcatcatg ggcggccatctt ctttactcg gaccggact 4200
tccctccctca aggccctggg tgccgtgtt ctggcagggg ccctggggctt ggggtccctg 4260
ctcggtgtcc tgcagagcgg ctataagatt cccctggccc cagggccctc cctatacgccc 4320
gggacggcgtt ctggacactt gcacccttgg tcccatgggtt gggggacagg agctgttcc 4380
cagctcgact tcaagctgtt gttttccctt ggcgtggccc agggcgccctt gggggccagc 4440
gtggaggcgtt acacccacac agatgggttg gaccatgtt ctttggggatggc ctgggatgtt 4500
gagacagccg ccacccacac ggccggctt cttggcagccaa ctttcggctt ttgtccctgtt 4560
ggcagaagag accagccctc ctccatgtcc ctttttttttgggtcagg ttatttttttt 4620

agggggcttc cctctcacac tgcctcagtg ctccacaacct tccagtgagg atgttacagg 4680
gtggccccca ttctaccat gtgaaaactg aggcccagg acacagtggc tgccctgtcg 4740
ctggatcagt agcagagcca gagctgcctc cgagcgccat gccgcctcg ggaatcatac 4800
aggaagagca cagttggatcc agggtggggg cctctcaccc cctaaccctg cccccccgca 4860
accctccct tcagcttac ggccggccagt gctgaatggc ccgtggccc tccctggcc 4920
tttgttctt ggccagagaa gacagaagga cccggcttgg gcttctgtcat gtcctacccc 4980
tgaccccagc ctcaaggggc ccctcaaagg ccctctctgg gggctctggg gctcagcaca 5040
gctttccca tggatctaag cccctgtctt tcccaccta ctctgagtggtt atgttttggg 5100
ggatggccc tggggggagg agctgccatg ccggccgcct gctcacggca gaaggttgt 5160
attaaaaatga cataggatgg c 5181

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 43

cttaagcgcc agagttagag c

21

<210> 44

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

223

<400> 44

aagcagtggt atcaacgcag agtggccatt atggccggg

39

〈210〉 45

<211> 23

<212> DNA

⟨213⟩ Artificial Sequence

220

223

<400> 45

aagcagtgg t atcaacgcag agt

23

<210> 46

<211> 19

<212> DNA

213 Art.

〈220〉

223

400

3488839

〈210〉 47

19

1211\ 22

〈810〉 DN

6018

<220>

<223>

<400> 47

tgttccttta ctacccacccg ctg

23

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 48

gtcatccccc gtgtccatag tctc

24

<210> 49

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 49

ttagcgagctg aggactggga ttgcgcgcga gcttcccccg gtcgtgcitgc cctggagcgg 60

agggggagcc ccagccctct 80

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 50

gagactatgg acacggagga tgac

24

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 51

aggccctcat ccacatacca

20

<210> 52

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 52

ggagcgcaac attttcacca gt

22

<210> 53

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 53

ccaaaggigc aagtgtccag ag

22

<210> 54

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 54

cactggatca ctcgagggtg tg

22

<210> 55

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 55

ccagtcccac gctgatgtg

19

<210> 56

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 56

ctgctgtttc tcgcccgtt cgga

24

<210> 57

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 57

aatgacatgc tcctggcctt c

21

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 58

atgcgtggcaa tcccaaaaga a

21

<210> 59

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 59

taçatcctca cctcctgctc agtgttcctg

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02279

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/15

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/DDBJ/GeneSeq, MEDLINE (STN), WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Morris J. A., et al., "Niemann-Pick C disease: cholesterol handing gone awry", Molecular Medicine Today (1998), Vol.4, pages 525 to 531	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Carstea ED., et al., "Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homestasis," Science (1997), Vol.277, No.5323, pages 228 to 231	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Hua X., et al., "Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein", Cell (1996), Vol.87, No.3, pages 415 to 426	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 July, 2001 (10.07.01)Date of mailing of the international search report
31 July, 2001 (31.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02279

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 30,40-45

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 30 and 40 to 45 pertain to diagnostic methods practiced on the human body and methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. Claims Nos.: 20-22,25-27,32-34,36-39,48-51

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Concerning the compound obtained by using a method or a kit for screening a compound promoting or inhibiting the activity of the protein of the invention and the compound having an effect of regulating cholesterol transfer on SSD, it is completely unknown what particular compounds are involved in the scope thereof and what compounds are not involved therein. Namely, the above claims are described in a very unclear manner. Such being the case, no meaningful opinion can be presented on the inventions as set forth in the above claims.

3. Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The technical matter common to claims 1 to 19, 23, 24, 28, 31, 35, 46 and 47 resides in genes relating to SSD. However, 4 SSDs had been already found out before the application of the present case, as described in the background of the invention (Current Opinion in Structural Biology (1998), Vol. 8, p.435-439, Cell (1996), Vol. 87, p.415-42, Molecular Medicine Today (1998), Vol. 4, p.525-531, Science (1997), Vol. 277, p.228-231, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1998), Vol. 95, p.9572-9577, J. Biol. Chem. Vol. 274, p.9572-9577, Cell (1999), Vol. 99, 903-915) (6). Thus, it is revealed as not novel to newly isolate SSD, which had been known as sensing cholesterol, from organs rich in cholesterol. Such being the case, the above-described common matter falls within the category of the prior art and thus cannot be regarded as a special technical feature as defined in Rule 13.2 of the Regulations under the PCT.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/15

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/15

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/DDBJ/GeneSeq, MEDLINE(STN), WPI(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Morris J. A., et. al., Niemann-Pick C disease:cholesterol handing gone awry., Molecular Medicine Today(1998), Vol. 4, p. 525-531	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Carstea ED., et. al., Niemann-Pick C1 disease gene:homology to mediators of cholesterol homestasis., Science(1997), Vol. 277, No. 5323, p. 228-231	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.07.01

国際調査報告の発送日

31.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

新見 浩一



4N 9839

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C(続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Hua X., et. al., Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein., Cell(1996), Vol. 87, No. 3, p. 415-426	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 30, 40-45 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求項30, 40-45は、ヒトの診断方法、ヒトの身体の治療方法による処置方法に該当するものであるから、PCT17条(2)(a)及びPCT規則39(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。

2. 請求の範囲20-22, 25-27, 32-34, 36-39, 48-51は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

本願シバク質の活性を促進もしくは阻害する化合物のクリーニング方法・キットで得られる化合物、SSDに働くコレステロール輸送作用調節作用を有する化合物については、化合物として具体的にどの化合物が含まれ、どのような化合物が含まれないのかが全く不明であって、前記請求項の範囲の記載は著しく不明確である。前記請求項に記載された発明に係る全ての有意義な見解を示すことができない。い。

3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-19, 23, 24, 28, 31, 35, 46, 47 に共通の事項は、SSDの関する遺伝子群であることである。しかしながら、本願背景技術にも記載されるように、本願優先日当時、4つのSSDが見いだされていることから (Current Opinion in Structural Biology(1998), Vol. 8, p. 435-439, Cell(1996), Vol. 87, p. 415-42, Molecular Medicine Today(1998), Vol. 4, p. 525-531, Science(1997), Vol. 277, p. 228-231, Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1998), Vol. 95, p. 9572-9577, J. Biol. Chem. Vol. 274, p. 9572-9577, Cell(1999), Vol. 99, 903-915) 、コレステロールを感じることが知られているSSDを、コレステロールが内蔵、多く存在する場所より新たに単離しようとすることは、新規でないことが明らかとなつた。

よって、この共通事項は先行技術の域をぐるものではないから、PCT規則13.2における特別な技術事項であるとはいえない。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかつた。